巾着網の一網平均漁獲量に関する研究*

(特に九州西海域における巾着網について)

山 下 秀 夫

(1960 年 10 月 3 日受理)

STUDY ON THE FISHING EFFICIENCY OF PURSE SEINE (WITH SPECIAL REFERENCE TO THE PURSE SEINES OPERATED IN THE WESTERN WATER ADJECENT TO KYUSHU)

Hideo YAMASHITA**

Some technical consideration were tried on the purse seine fishing in the western water of Kyushu, with special reference to the relationship between catch and three fishing factors; States of nets in operation, current and gathering condition of fish under a fishing lamp.

Present study is based on the data from October 1955 to December 1958. The admissible conclusions are summarized as follows.

1) The average catch of each state of nets in operation is as follows:

Type A····447 boxes Type C···· 44 boxes

Type B····230 boxes Type D····174 boxes

As a matter of course, the catch of type A is largest. The appearance rate of type A is above 70% in winter and below 50% in early summer.

2) The correlation coefficient of appearance rate of type A to that of favourable condition of current is $\rho(X, Y) = 0.98$. Namely, the state of nets in operation are greatly influenced by current. Consequently, the catch depends on the condition of current greately.

3) The average catch in favourable condition of tidal current is 471 boxes and that in unfavourable condition is 198 boxes. The former is 2.5 times as many as the latter.

4) The gathering condition of fish under a fishing lamp is favourable in the period from summer to early autumn and is unfavourable in winter. The degree of gathering condition of fish under a fishing lamp is closely related to the growth stage of each species. During the period from summer to early autumn, young fishes such as small and medium sardine, jack mackerel and mackerel are superior in number. While in winter, the adult and large sardine is superior.

5) The average catch in the favourable condition of gathering condition of fish under a fishing lamp is 434 boxes and that of reverse case is 260 boxes. The former is 1.7 times as the latter.

6) The average catch in the condition A (three factors are all favourable) is 700 boxes and that in the condition B (one or more of these three condition is unfavourable) is 200 boxes. There have been no case that the catch is less than 200 boxes in the condition A.

7) For the evaluation of fishing grounds by catch, the average catch should be calculated on the cases catching more than 200 boxes.

九州西海域における旋網漁業は，ほとんどが集魚灯を使用した夜間操業を行なつている。旋網は中層以浅に游泳する魚群の捕獲を目的とするので，潮流，風向，風力および灯付きなどを考慮して漁撈を行なう。操業に当つては魚群探知機で魚群を発見した後，集魚灯により魚群を浮上させ，または集魚したのち投網する。

---

* 西海区水産研究所研究業績第 127

** 西海区水産研究所 (Seikai Reg. Fish. Res. Lab.).

このとき網船は風向，風力と潮流を最大限に考慮して投網するのであるが，その良否は「網成り」に影響し，ひいては漁獲量を左右する。こうして，旋網においては同一時期，同一海域で操業しても海象，気象の条件や漁獲量が大きく異なる場合が多い。したがつて魚群量の指数としては機械的に計算した一網平均漁獲量でなく，投網時の諸要因を考えて計算した値によるべきである。筆者は 1955 年 10 月より 1958 年 12 月までの九州西海域における操業結果についてこの面からの分析を行なつた結果，一応の結論をえたので報告する。

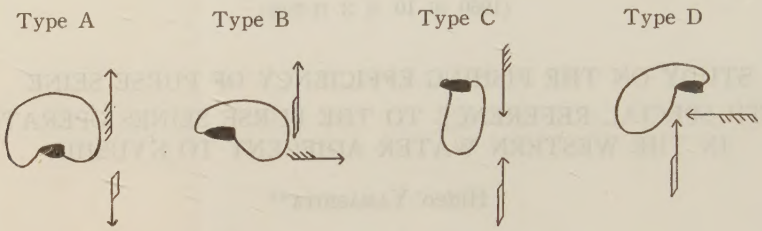


Fig. 1. Types of purse seine.

網成りと漁獲量： ここで「網成り」とは，投網後環網を締めたときの網の形状をいい，Fig. 1 に示すように浮子の形状により A・B・C・D の 4 つの型に分けた。A 型＝標準の状態であつて網成りは理想的である。B 型＝風と潮流とのバランスが崩れて，網が船尾の側へ寄せられた状態。操業困難となり，漁獲効率は A 型に較べて低下する。C 型＝風と潮流との関係が逆の場合，または潮流が異常で二重潮[5]，時化潮[2] などの場合に起きる状態。網地が船底に沈み，浮子が反対側の左舷側に浮上しているのに沈子は右舷側にあつて網地がよじれている。操業には最も不適当な状態で網地を流失する場合がしばしばある。D 型＝"B 型" と全く対照的な形状。操業状態はあまりよくない。

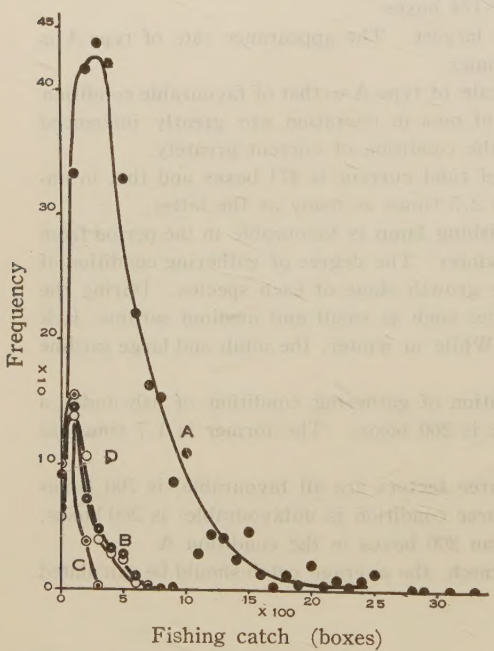


Fig. 2. Relationship between state of purse seine and catch.

以上の 4 つの型別に平均漁獲量を求めると Table 1 となる。A 型は 447 箱*で最も良く，B 型では約 1/2 の 230 箱，D 型では約 1/2.5 の 174 箱となつている。また最も悪条件の C 型では A 型の僅か 1/10 の 44 箱にすぎず，網成りの型によつて明瞭な差があることが認められた (Fig. 2)。つぎに A 型の出現率の月別変化を示すと Fig. 3 のとおりである。各年とも最高は 12 月を中心として現われ 70% 以上の出現率を示しているが，最低は 6 月を中心に現われ 50% 以下となつている。ここで潮流の好条件**の出現率を月別変化を示すと Fig. 4 のようになる。この変化は網成り A 型の場合とよく符合し，各年と

Table 1. Average catches by states of purse seine.

Types of purse seine	A	B	C	D
Average catch (in box)	447	230	44	174

* A 型で一網漁獲量 6500 箱という例があるが，この値の算出からは除外した。

** 潮流の好条件とは，投網時に流速，方向が投網するために理想的であつた場合（各漁撈長の判断による）。

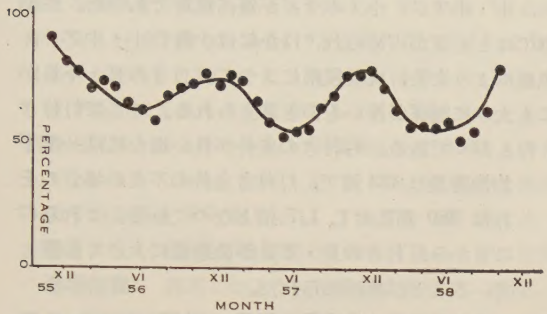


Fig. 3. Monthly change of appearance rate of the type A.

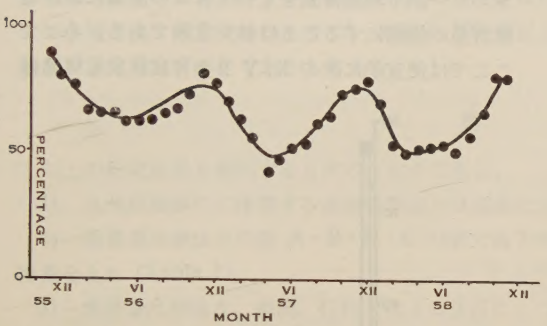


Fig. 4. Monthly change of favourable condition of tidal current.

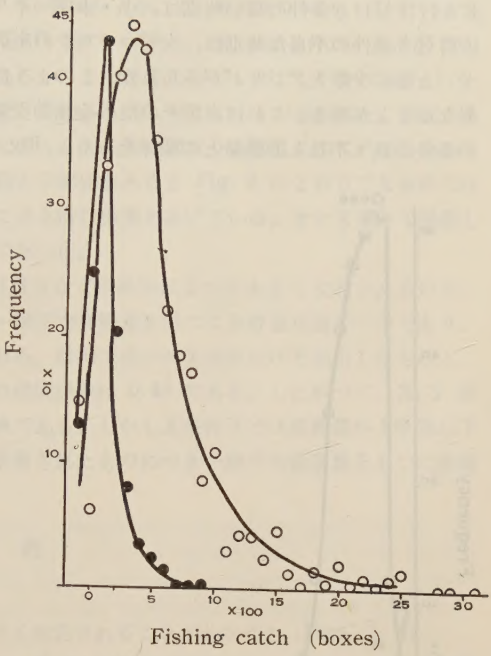


Fig. 5. Relationship between condition of sea current and catches. Average catches of a hauling by condition of tidal currents are:
Good condition····473 boxes
Bad condition ····198 boxes

も最高は 12 月を中心に 70% 以上の出現率であるが，5・6 月には低下して 50% 以下となつている。潮流の好条件出現率と網成り A 型の出現率との相関係数は 0.98 で網成り A 型出現は潮流の良否によつてほとんど決定されることが判つた。前述したように網成りA型の出現率が 6 月を中心として低下するのは，季節性二重潮[5]，突発性二重潮[9]（辻田 '54, '57）が当海域の漁場において頻繁に発生するためによるものと思われる。次に，潮流の良否と漁獲量との関係をみると Fig. 5 のとおりである。この図から潮流の条件が良い場合には一般に漁獲量も良いことがわかる。潮流の良・不良別の一網平均漁獲量は良い場合が 473 箱で不良の場合は 198 箱で約 2.5 倍に当る。すなわち潮流によつて網成りが大きく左右され，ひいては漁獲量に影響することが判つた。

灯付きと漁獲量：夜間漁業であるから灯付きの良否は前述した網成りとともに重要な問題である。灯付きの良い（魚群の浮上良好および魚群が集魚灯下より逸散しないこと）場合を「良」とし，灯付きの悪い（前者とは正反対のこと）場合を「不良」として，灯付きの「良」の出現率の月別変化をみると Fig. 6 のとおりである。各年とも夏期から初秋期の 8・9 月に好条件が続き 80% 以上の出現率を示した。次に火付きの良・不良とマイワシ・アジ・サバなどの魚種組成との関係をみると，夏期から初秋期

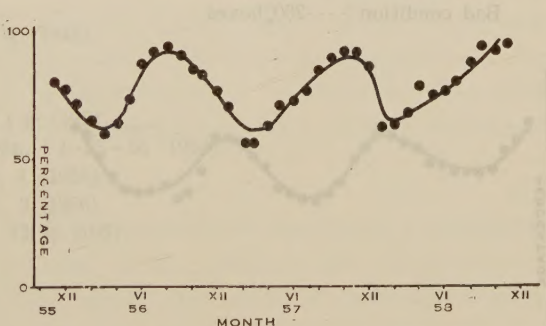


Fig. 6. Monthly change in good condition of gathering condition of fish under a fishing lamp.

にかけて灯付き条件の良い時期は，小・中羽マイワシ，小・中アジ，小・中サバが優占種群であつた。冬期の灯付き条件の不良な時期は，大羽マイワシの産卵群でほとんどが占められ，ほかには少数の小・中アジ，サバと極く少数大アジサバがみられた。このように魚種によりまた，成長段階によつて灯付きの良・不良が異なることが判る。これは産卵その他の生理的現象にも大いに関係が深いものと考えられる。ここで灯付きの条件の良・不良と漁獲量との関係をみると Fig. 7 のとおりである。灯付きの条件が良い場合には一網平均漁獲量は 434 箱で，灯付き条件の不良の場合のそれは 260 箱に対し 1.7 倍となつている。これらのことから灯付きの良・不良が漁獲量に大きく影響していることが確かめられた。

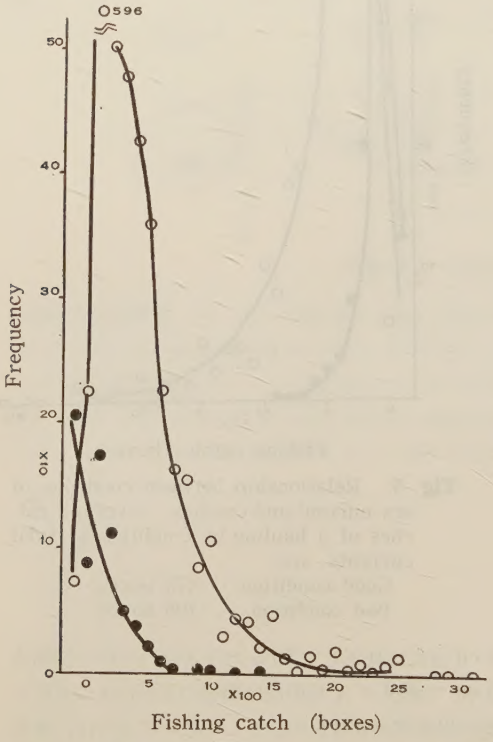


Fig. 7. Relationship between gathering condition of fish under a fishing lamp and catches. Average catches of a hauling by condition of gathering condition of fish under a fishing lamp are:
Good condition····434 boxes
Bad condition ····260 boxes

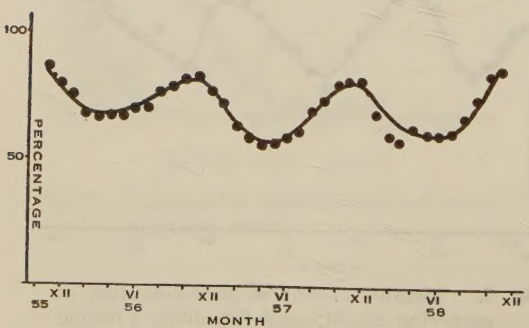


Fig. 8. Monthly change of the condition A.

2つの条件と漁獲量と関係: 前述したとおり潮流，網成り，灯付きなどが漁獲量と密接な関係があるので，魚市場における水揚量をそのまま使用して求めた一網平均漁獲量をもつて各々の漁場における魚群量の指標にすることは甚だ危険である。そこでここでは便宜的に次の X, Y 2条件に区別して漁獲

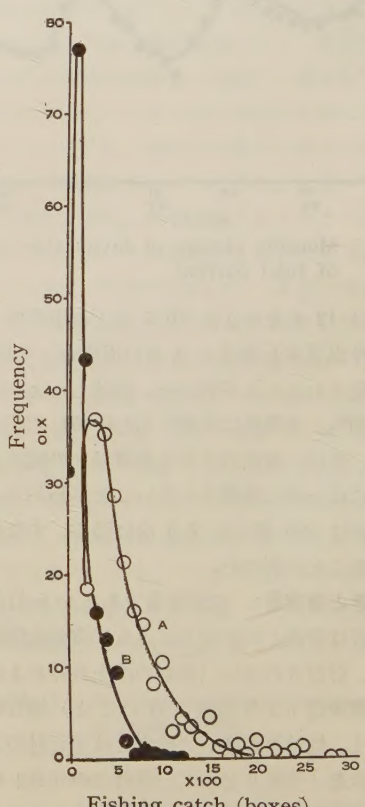


Fig. 9. Relationship between two condition (A and B) and catches. Average catches of a hauling by condition are as follows:
Condition A····700 boxes
Condition B····200 boxes

量との関係を分析することを試みた。すなわち“X条件”① 網成りA型，② 潮流条件が良，③ 灯付き条件が良と三拍子揃つた場合。“Y条件”① 網成りが B・C・D 型のいずれか，② 潮流条件が不良，③ 灯付き条件が不良。このように3点ともに操業条件が不良であるか，または3点中で1点でも不良の場合。

まず最初にX条件の出現率をみると，Fig. 8 のとおりで，各年とも 10 月にピークが現われた。網成りA型の出現率とX条件のそれとの相関係数は 0.99 と非常に高く，X条件は網成りA型によつて代表されるとしてよいようである。次に，X・Y の2つの条件と漁獲量との関係をみると Fig. 9 のとおりでX条件では一網平均漁獲量 700 箱を示し，Y条件の 200 箱に比べて 3.5 倍の漁獲をあげている。またX条件で操業した場合には1回操業で漁獲量199箱以下という例は皆無であつた。

漁場指標： 前述したように漁獲量は網成り，潮流，灯付きなどの条件によつて大きく左右されるので，ある一定条件下において操業されたもののみについての一網平均漁獲量を以つて魚群量を論ずべきであり，その条件としては前述のX条件をとるのがよいと考えられる。前項で述べたX条件だけを抽出したものと，XとY条件を加えた（魚市場水揚量）ものとの月別変化の相関係数は 0.43 である。したがつて，X, Y 条件を加えたものはX条件下の魚群量は代行することは危険である。しかしX条件下では漁獲量が199箱以下という場合は1例もなかつたので*，漁獲量 200 箱以上漁獲されたものにつき一網平均漁獲量をもつて漁場の魚群量を推定すべきであると考える。

要　　約

以上の研究結果を要約すると次のとおりである。

1) 九州西海域にて操業する旋網の網成りは潮流に大きく左右されることがわかつた (Figs. 3, 4)。

2) 漁獲量は網成りの型 A・B・D・C の順で低下する。A 型は C 型で操業した場合の 10 倍以上の漁獲量をえた (Table 1)。

3) 漁獲量は網成り，潮流，灯付きなどの良否によつて主として左右される (Figs. 2, 5, 7)。

4) 一網平均漁獲量をもつて，その漁場の魚群量を推定するときは一網の漁獲量199箱以下のものを除外して計算すべきである。

この研究を行なうに当り，長崎県企画室松本光之室長，長崎県西彼杵郡野母崎町漁民組合倉野丘専務，当時野母崎樺島町漁業協同組合吉田原平専務の諸氏には漁況資料の蒐集に当つては便宜を与えられたこと多大であつた。擱筆するに当り，これらの方々に衷心から厚くお礼申し上げます。また終始御指導ならびに御援助下さつた西海区水産研究所伊藤僴所長，辻田時美部長，近藤正人科長の諸氏に謝意を表わします。

文　　献

1) 宇野道夫： 本誌，**4**, 3 (1935).
2) 宇田道隆： 長崎海洋気象台研究報告第1号 (1948).
3) 井上　実： 本誌，**19**, 9 (1953).
4) 飯高勇之助： 本誌，**20**, 7 (1954).
5) 辻田時美： 西海区水産研究所研究報告第1号 (1954).
6) TOMODA, Y.: Journ. Seism. Soc. Japan. I-55～56 (1954).
7) 千種正則他： 農林省水．講．研究報告 **6**, 1 (1956).
8) ————: 農林省水．講．研究報告 **6**, 3 (1956).
9) 辻田時美： 西海区水産研究所研究報告第 13 号 (1957).
10) 近藤　仁他： 本誌，**26**, 3 (1960).

---

* 魚群量の少ない群に投網したため漁獲量が多くないことも考えられるが，ここでは投網前に魚群探知機にて魚群量を確かめるので，この点の疑念はない。

ヨシノボリの研究—I.

生活史の比較*

水野信彦

(1960 年 10 月 1 日受理)

STUDY ON THE GOBIOID FISH, "YOSHINOBORI" *RHINOGOBIUS SIMILIS* GILL—I. COMPARISON OF LIFE HISTORIES OF THREE ECOLOGICAL TYPES

Nobuhiko MIZUNO**

A common polymorphic freshwater goby, "Yoshinobori" *Rhinogobius similis* Gill, was divided into the three ecological types of an amphidromous type, a lacustrine type and a fluvial type; and these types were compared on the subject of life-historical features.

Both the amphidromous type and the lacustrine type spawn in summer a great number of small eggs (Fig. 1, A; Table 1), from which swimming larvae hatch (Fig. 1, B). Their larval stages are spent in the stagnant waters like seas (in the case of the former), lakes and ponds (in the case of the latter). They are distributed all over Japan.

The fluvial type spawns in summer a small number of large eggs (Fig. 2, A; Table 1), in which their swimming stages are passed. The newly hatched larvae (Fig. 2, B) transform directly into benthic young fish of the essential form of adult. They spend their whole life in the mountain streams in the southwestern province of Japan.

As a result of the above comparisons, the fluvial type may be considered to belong to a different species from the other two types.

ヨシノボリ *Rhinogobius similis* GILL はわが国ではごくふつうにみられるハゼ科の淡水魚である。本種の形態・色彩に変異の多いことはよく知られているが[1]，筆者はその生活内容からみて，本種には両側廻遊型・湖沼型・河川型の3つの型がふくまれていることを 58 年に予報的にのべた[2]。本報では 58 年の報告でほとんどしるすことのできなかつた資料をあげて，3型の生活史を比較し，河川型は他の2型と種がちがうことをのべようと思う。

調査にあたつては多くの方の御援助を得た。京都大学の宮地伝三郎教授・森主一助教授は本研究を指導して下さり，河川生態研究グループの川那部浩哉博士と児玉浩憲氏は調査に協力して下さり，淡水区水産研究所の小野寺好之氏ほか所員の方々からは数々の助言を頂いた。ここにしるしてあつく感謝する。なお研究の一部は文部省科学研究費と水産庁淡水区水産研究所の京都府に対する委託研究費によつて行なつた。

I. 卵の大きさと数

両側廻遊型と河川型の各個体より 10～15 個の卵をとつて，その長径をミクロメーターで測定した (Table 1)。各個体の卵巣重と体重の比は両型とも約 11～15% であつて，熟度はほぼ等しい。両側廻遊型の完熟に近い卵は 0.4～0.8 mm，河川型のは 1.4～2.1 mm であつて，後者の卵径は前者のほぼ3倍である。 未熟

* 報文内容の一部は昭和 34 年度日本水産学会年会で口頭発表した。

** 現在の所属は大阪学芸大学生物学教室 (Biological Laboratory, Osaka Gakugei Univ.)。 研究の主要部分は京都大学理学部動物学教室において行なつた。

Table 1. 体内熟卵の直径と数
Diameter and number of mature eggs in ovary.

	体長 Body length	熟卵径 Diameter of mature eggs	未熟卵径 Diameter of immature eggs	熟卵数 Number of mature egg	卵巣重/体重 Ovary weight / Body weight
両側廻游型 Amphidromous type	56.5 mm	0.7～0.8 mm	? mm	2200	0.11
	42.0	0.5～0.6	0.1～0.2	2000	0.16
	36.5	0.4～0.5	0.1	1500	0.12
河川型 Fluvial type	46.2	1.8～2.1	0.2～0.3	119	0.15
	43.6	1.6～2.0	0.2	91	0.11
	42.0	1.4～1.6	0.3	106	0.12

卵の長径も河川型の方が大きい。産着卵についてみても，河川型のそれは両側廻遊型よりはるかに大きく，卵の長径・短径・卵黄径は前者でそれぞれ 6～6.5, 2.0, 1.6～18, 後者で 2.4, 0.7, 0.6 (いずれも単位は mm) である (Figs. 1 と 2 の A)。

一方，体内の熟卵数は両側廻遊型がほぼ 1500～2200, 河川型が 100 前後で，前者が後者の約 20 倍である (Table 1)。一産着卵群の卵数も河川型が 53～131, 平均 84 (11 例) であるのに，両側廻遊型のは数百個以上 (15 例観察) と推定された。以上のことから両側廻遊型は多数の小形卵を，河川型は少数の大形卵をうむことがわかる。

II. 発育過程の比較

形態の面での発育過程のあらましは Figs. 1 と 2 に示した。両側廻遊型 (宇川産) のふ化直後のもの (Fig. 1 の B) は全長約 4.0mm で，口部やひれが未完成であるほか，体各部の形態も成魚 (同D) とだいぶちがつている。かれらは器の底に横たわつていて，時折体をけいれん的にふるわせてはぼうふらのように水面へ上昇する。卵黄を吸収しても，外見上の形はあまり変わらないが，この頃から水の上層・中層を水平に泳ぎ，プラスの走光性*をかなり強く示す。

この時期以後 2～3 か月間は海中で生活するので，川の中では採集できない。そうして，Fig. 1 の C の段階 (未成魚) ぐらいにまで成長したものが，9～10 月ごろ川口付近を海から溯上して来る。かれらは岸沿いに流れの中層を群泳し，時々底に静止する。人が追つても，石の下にはかくれずに中層を泳いで逃げる。すなわちまだ完全な底生生活には入つていない。しかし溯上開始後約 1 カ月までの間には底生生活に移行するようである。

これに対して河川型は，ふ化時の全長が 7.5mm もあり，各ひれがはつきりと形成され，ひれ条数も定数に達している (Fig. 2 の B)**。ただ胴部はまだ側扁し，口も体側の中心線上に上向きについており，両側廻遊型の溯上中のものより，一見遊泳生活により適した形をしている。しかし，かれらはふ化直後から底生性を示し，器の底をはなれて遊泳するのは見られなかつた。また光に対しても目立つた反応は示さない。

卵黄を吸収したもの (同C) は，口のつき方や体側面のプロフイルが成魚 (同E) の状態に一層近ずく。かれらは流れのゆるい岸よりの砂底や大石の上にいて，石の下にはあまりもぐらない。人に追われると，底をはつて逃げるだけで，遊泳はしない。すなわち両側廻遊型のものより底生性がかなり強い。未成魚や成魚になると，流れの一層はやい所で底生生活を送つている。

以上のように，河川型は，産着卵はもちろん，卵黄吸収直後のものから成魚までのあらゆる発育段階のも

* この性質はハゼ類の仔魚に一般的にみとめられる (道津，未発表原稿)。
** ふ化のせまつている胚児は，卵をかるくゆらしたり，水面上に持ちあげたりするとふ化してしまうので，ふ化時の形態には個体差がある。ここでは発育のもつとも進んだものについて図示，説明した。

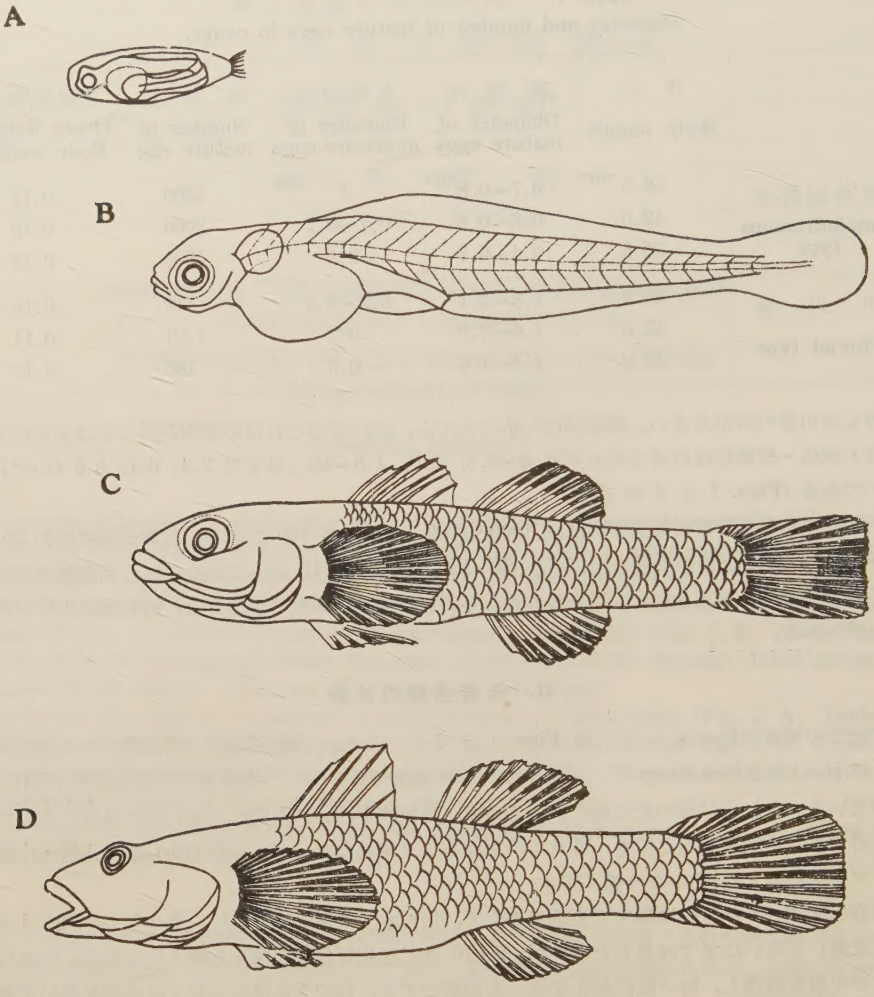


Fig. 1. 両側廻遊型の発育にともなう形態変化
Morphological change in the development of an amphidromous type.

A: 卵と胚 Egg and embryo (× 8.5)
B: ふ化直後の仔魚 Newly hatched prolarva (× 20)
C: 遡上中の未成魚 Immature fish ascending a river from the sea (× 4.0)
D: 成魚 Adult (× 1.7)

のが，川の中で採集でき，かられが川の中で一生を送つていることがわかる。また Fig. 1 の B と Fig. 2 の A*・B とを比較すれば，両側廻遊型の海中生活期に相当する発育段階を，河川型は卵の中でほぼすごしてしまうと考えることができよう。

野外の観察から両型とも満2年で成熟するが，少数のものは満1年で成熟することが予報的に言いうる。京都府の由良川，愛媛県の重信川・蒼社川など両型が同じ場所にいる所でも，両側廻遊型は河川型より一般

* この段階のものは卵膜をはずして，淡水・海水のいずれにさらしても，発育を続けていく。その時の経過時間も正常の卵内発生のばあいとほとんど差がない。

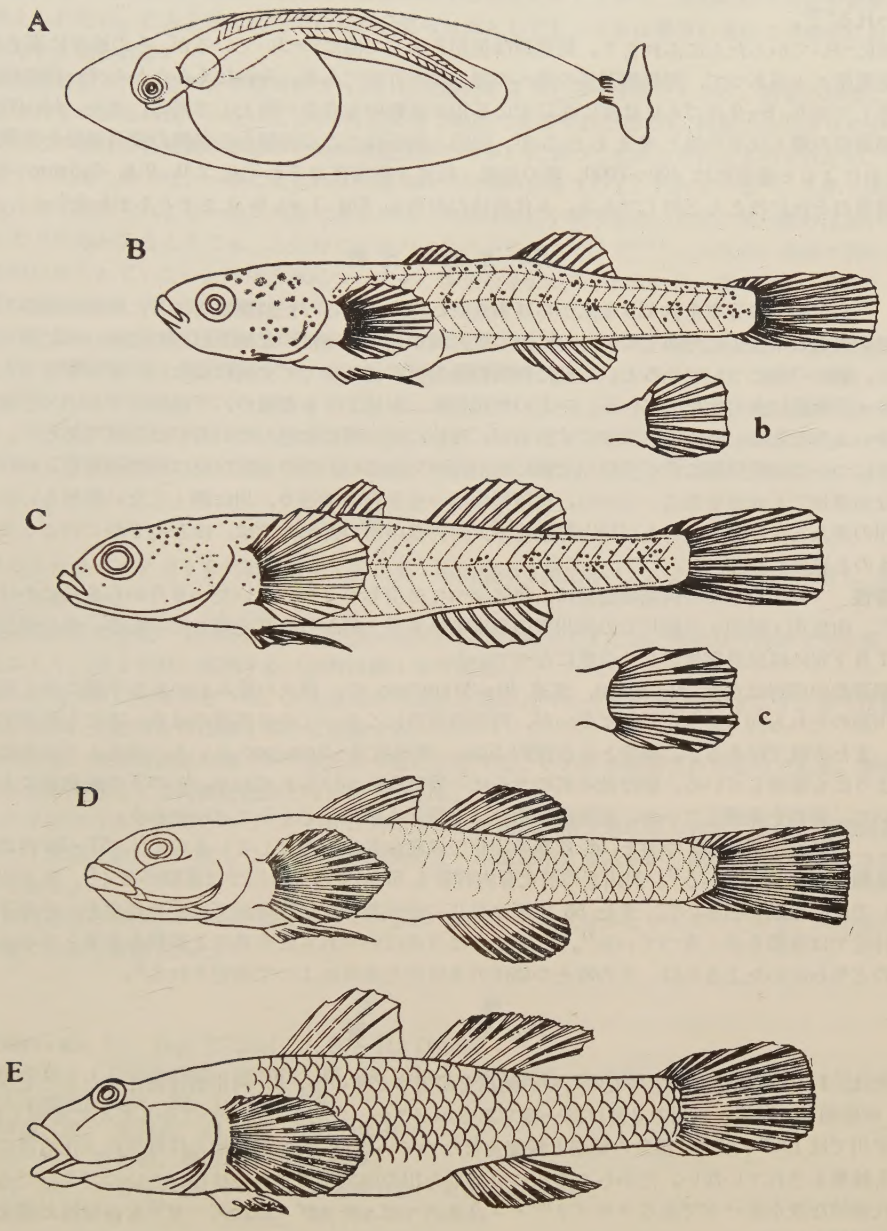


Fig. 2. 河川型の発育にともなう形態変化
The same of a fluvial type.

A: 卵と胚 Egg and embryo (× 13.5)
B: ふ化直後の仔魚とその腹びれ (b) Newly hatched prolarva and its ventral fin (b) (× 13.5)
C: 卵黄吸収後間もない幼魚とその腹びれ (c) Early postlarva and its ventral fin (c) (× 13.5)
D: 未成魚 Immature fish (× 6.5)
E: 成魚 Adult (× 2.7)

に大形である。なお小林と大平の報告はここでいう両側廻遊型を，丹羽のは河川型をそれぞれ対象にしたものと思われる[3-5]。

湖沼型についてかんたんにふれよう。琵琶湖は淀川を通じて海につづいているが，その途中に高さ約30mの大峯発電所ダムがあつて，両側廻遊型の湖への遡上は不可能である。それにもかかわらず，湖には本種が多数生息しており，8～9月ごろには湖に注いでいる川に多数の未成魚が遡上して来る。また，村山貯水池にも両側廻遊型の遡上は不可能と考えられるが，岡田と清石はここで採種した本種の発育過程を記載している[6]。それによると産卵数は 400～7000，卵の長径・短径・卵黄径はそれぞれ 2.0，0.6，0.5mm であつて両側廻遊型のそれにほとんど同じである。ふ化直後の形態も Fig. 1 の B とあまりちがわない。

III. 生態の比較

分布　わが国での分布を約115地点から採集された標本で調らべた結果によると，両側廻遊型と湖沼型は北海道を含む日本全土に分布しているのに対して，河川型の分布は中部地方以西の西南日本に限られるようである。個々の川についてみると，一般に両側廻遊型は本流に多くて支流に少ない。また本流でも上流部よりも中・下流部に多く生息している。一方の河川型は，本流よりも支流の，下流部よりも中・上流部の個体数が多いようである。幼期を海ですごす前者が，海岸に近い所に生息しているのは当然であろう。

湖沼型については琵琶湖に注ぐ天野川で調らべただけであるが，その生息状況は両側廻遊型とほぼ同じである。なお湖岸でも成魚を見ているから，湖沼型には一生を湖中で送り，川に遡上しない個体もいるのであろう。川の流入しない池，たとえば村山貯水池や大阪府豊中市のため池では，ほとんどがこのような生活史を送るものと思われる。

産卵習性　京都府宇川の両側廻遊型は，年によつて多少ちがうが，だいたい6月から8月にかけて産卵するし[2]，由良川・鴨川・犬飼川での河川型の産卵期は6月上旬から8月上旬までである。また琵琶湖の湖沼型は7月下旬には成熟個体がごく少数になつていた。

両側廻遊型の卵群は水深 20～80cm，流速 10～30cm/sec で，頭大の沈み石のある平瀬に多く見出される。河川型のそれも同じような平瀬に多いが，両側廻遊型にくらべてやや流速のはやい方にも産卵する傾向がある。また少数ではあるが，両型とも水深約 5cm，流速約 3～5cm/sec という，ほとんど止水に近いような岸よりにも産卵している。卵は沈み石のうらに一層にうみつけられており，その下の産卵室に1尾の雄成魚がいて，卵群を保護している。結局産卵習性は3型ともほぼ同じとみてよいだろう。

食性　両側廻遊型は 55 年夏と 58 年春の宇川では底生昆虫を専食しているのに[2]，57・58 両年の夏と秋には藻類を多く食つている[7]。河川型の消化管内容物も 57 年夏の上桂川では藻類が多く[2]，五月川（淀川の支流）では底生動物が多い[8]。また 58 年夏の祁川の湖沼型は，伊吹付近では底生昆虫を，その下流にある坂口付近では藻類を多く食つている[7]。このように3者はいずれも底生昆虫と藻類を主食とすることができ，そのどちらにかたよるかは，その時その場所の具体的な条件によつて決定される[9]。

IV. 考　　察

ここでは，1）両側廻遊型はすべてのものが幼期を海ですごすのか，2）河川型は海にくだることがないのか，3）両側廻遊・湖沼・河川の3型は同一種であるかどうか，などの点についてかんたんに考察したい。

1）　宇川では1957年以来仔稚魚の観察と採集を行なつているが，両側廻遊型の仔稚魚はふ化直後のもの以外観察も採集もされていない。だからこの川には幼期を川の中ですごすものはないといつてよいだろう。わが国の代表的な淡水産ハゼであるウキゴリ[10]・ゴクラクハゼ・チチブ・ボウズハゼ[11]も一般に幼期を海ですごすことが知られている。

しかしまた，ウキゴリ・ゴクラクハゼ・ビリンゴ・チチブの陸封されたもの（道津，未発表原稿）やヨシノボリの湖沼型が存在することから推察できるように，両側廻遊型の幼期の生存にとつて海水が不可欠の条件とは考えられない。川を通じて海とつながつている湖沼があれば，そこで幼期をすごすものが生息するかも知れない。しかしかれらは幼期を海ですごしたものと地理的に隔離されずに混在することになるだろう。この点の調査はまだ行なつていないが，それらは全体として両側廻遊型に含めても，いちおうさしつかえないだろう。

2）　さきにも述べたように，河川型が川のなかだけで一生をすごし得ることは確実である。そのうえふ化

直後の形態や強い底生性は，流れのなかでの生活に対する適応を示しており，幼期に海中生活を必要とする理由は考えられない。たとえ海で河川型の幼魚が見られたとしても，それは発育の過程で必然的におこつたものではないと思われる。

3) 両側廻遊型と河川型の卵や発育史のちがいは同種内の変異とみなせるだろうか。両者の卵径には中間的な大きさのものが見られていないし，同じ時期に同じ場所で産卵された卵でも，両型ではつきりちがつている。だからこの差は彷徨変異や季節その他の環境条件のちがいによつてもたらされたものではない。同一環境に生息する同種の魚では，一般に成長のよい個体ほど大形の卵をうむといわれている[12]。しかし両側廻遊型の成魚は河川型のそれより一般に大形であるのに，熟卵は逆に小形である。また，同一種のばあいには，卵径にかなりの差があるときでも，ふ化時の仔魚の大きさがちがうだけで[13,14]，ふ化時の形態や習性が異なつている例は知られていない。体内卵数についても，体長の2倍とちがわない同一種の魚が，ほぼ1：20という大きな差を示した例はまだ報告されていないようである。

このように卵とふ化仔魚の形態だけを考えても，両側廻遊型と河川型が同一種であるとするのは無理であろう。一方，両側廻遊型と湖沼型をくらべると，後者が陸封されているというだけで，卵径・卵数・ふ化時の形態・生態などはほとんどちがわない。すなわち，陸封されているという点では河川型と湖沼型が同じであつても，その他の面では両側廻遊型と湖沼型がよく似ており，この両者と河川型は非常に異なつていることがわかる。これらの点については，第II報で成魚の形態比較を行なつた上で，改めて考察したい。

要　　約

ハゼ科の淡水魚ヨシノボリを両側廻遊型・河川型・湖沼型の3型に分けて，その生活史を比較し，種の異同について考察した。

1) 両側廻遊型は多数の小形卵をうむ。仔魚・稚魚の段階は海中ですごし，未成魚の段階で川に遡上して底生生活に入り，満2年目に成熟する（少数は満1年で成熟）。

2) 河川型は少数の大形卵をうむ。ふ化直後から底生生活に入つて一生を川の中ですごす。多くは満2年目に成熟するが，少数のものは満1年目に成熟する。

3) 湖沼型は，両側廻遊型の遡上不可能な湖や池に生息する，いわゆる陸封されたものである。卵径・卵数・ふ化仔魚の形態などは両側廻遊型とほぼ同じである。

4) 上の2型は日本全国に分布しているが，河川型の生息地は西南日本に限られる。また，両側廻遊型が本流の中・下流部に多いのに対して，河川型は本流の上・中流部や支流に多い。産卵習性や食性は3型ともほぼ同じである。

5) 両側廻遊型と湖沼型の生活史はよく似ているが，河川型のそれはかなりちがつており，河川型は前2者とは別種であると考察された。

文　　献

1) TOMIYAMA, I.: Jap. J. Zool., **7**, 37～112 (1936).
2) 水野信彦・・川那部浩哉・宮地伝三郎・森　主一・児玉浩憲・大串竜一・日下部有信・古屋八重子: 京大生理生態業績，**81**, 1～48 (1958).
3) 小林彦四郎: 水研誌，**18**, 107～110 (1923).
4) 大平　司: 採と飼，**20**, 163～165 (1958).
5) 丹羽　弥: 木曽谷の魚，1～302，木曽教育会，木曽福島 (1954).
6) 岡田弥一郎・清石礼三: 水研誌，**33**, 94～97 (1938).
7) 児玉浩憲（印刷中）: 日生態会誌.
8) 御勢久右衛門: 関西自然科研会誌，**11**, 29～31 (1958).
9) KAWANABE, H.: Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto, Ser. B., (Biology), **26**, 253～261 (1959).
10) 道津喜衛: 九大農学芸誌，**15**, 367～374 (1955).
11) ————・水戸　敏: 同誌，**15**, 213～221 (1955).
12) BROWN, M. E.: Physiology of fishes. 第9章，361～400, Academic press, New York (1957).
13) 白石芳一: 山梨県西湖におけるコアユの水産生物学的研究（成長・食性・繁殖・廻遊）. 1～34，淡水研と山梨県農林部 (1956).
14) 中村守純: 滋賀水試への報告書（原稿）

カワヤツメ(円口類)の内柱および甲状腺の形態

本 間 義 治

(1960 年 10 月 13 日受理)

THE HISTO-MORPHOLOGY OF THE ENDOSTYLE AND THYROID GLAND OF THE SEA-LAMPREY, *LAMPETRA* (= *ENTOSPHENUS*) *JAPONICA* (MARTENS)

Yoshiharu HONMA*

The external and internal structure of the endostyle of ammocoetes larvae and thyroid gland of adult sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*, during its anadromous season are described.

The endostyle of ammocoetes is situated between the first and fifth branchial pouches, and consists of five cavities. In the epithelium of endostyle six types of cells are distinguished; of these, the type III cells which form the lateral wall of the endostylar cavity seem to change into the cells forming the follicular epithelium of the adult thyroid gland.

The thyroid of the adult lamprey is very small, and wet weight of the gland per g. of body weight is only 0.007 mg. The gland is spindle-shaped and lies on the dorsal surface of the basibranchial artery; it extends from the bifurcated regions of the first to the fifth branchial arteries.

The thyroid follicles can be divided roughly into three groups: (1) the follicles surrounded by high epithelium have a small lumen filled with small quantity of colloid, and are situated in the anterior and posterior regions of the gland, (2) the follicles surrounded by low epithelium have no smooth colloid in their lumens, (3) the lumens located in the central part of the gland have broad cavities.

The thyroid follicles of the sea-lamprey seem to be of the holocrine type.

はしがき

ヤツメ類のアンモシーテス幼生の咽頭床から生じた鰓下溝＝内柱については，古くから変形過程が観察され (MÜLLER, 1873; SCHNEIDER, 1879)，内柱室上皮が6型の細胞からなることや，それらのうち第 II と第IV型細胞が甲状腺泸胞の形成にあずかるらしいことが発表されている (LEACH, 1939)[5]。しかし，放射性ヨードは特に第 III 型細胞に集中するといわれ (GORBMAN and CREASER, 1942[4]; OLIVEREAU, 1955[7])，組織学的にも同様な事実が認められている (STERBA, 1953[9])。

一方，日本産円口類＝嚢鰓類の甲状腺系器官については，まつたく報告されていないと思われる。最近，著者[1),2)] は円口類の内分泌腺について観察を続けているが，ここでは，カワヤツメの内柱と甲状腺の形態を記載する。

円口類について，著者と共同研究を進め，批判と助言を惜しまなかつた香港大学動物学教室の R. STRAHAN 講師，ならびに材料の採集にあたつて援助をいただいた日本ガス化学工業株式会社に謝意を表わす。

材料および方法

供試材料の *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica* は，1960 年 3 月に新潟県直江津付近より採集した

* 新潟大学理学部生物学教室 (Dept. Biol., Fac. Sci., Niigata Univ., Niigata, Japan).

アンモシーテスと，1959 年 10 月 25 日ならびに 12 月 24 日に新潟県信濃川水系より捕獲した遡河中の成魚である。アンモシーテスの全長は 135～138 mm，体重は 4.3～4.4 gr，筋節数は鰓孔の後縁より臀鰭基部まで 70，おなじく排泄腔まで 57～58 であり，一方成魚の全長は 450.0～466.0 mm，体重は 135.3～143.6 gr であつた。固定は，現場で BOUIN 氏液に投じて行ない，剔出した内柱および甲状腺域は，外形を観察後 7～8μ のパラヒン切片となし，Azan, PAS, DELAFIELD 氏ヘマトキシリン・エオシン，HEIDENHAIN 氏ヘマトキシリン・ライトグリーンで染色して鏡検した。

観 察 結 果

外形　アンモシーテスの内柱は，第Ⅰ～第Ⅴ鰓嚢の間にあり，背面からは鰓溝部域がみえるていどにすぎないが，腹面からでは結合織性鰓軟骨にはさまれた左右相称のふとい管としてみられる。内柱の長さは 8.0 mm，巾は 1.6 mm であつた (Fig. 1)。

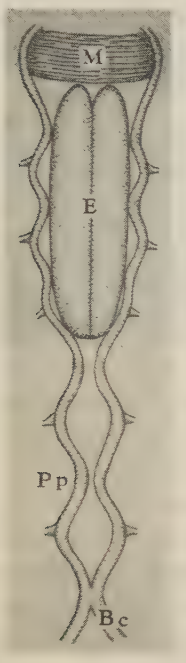


Fig. 1. General form of endostyle of sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*. ventral view (×4)
M. Muscle; E. Endostyle; Pp. Pharyngeal pouch; Bc. Branchial cartilage.

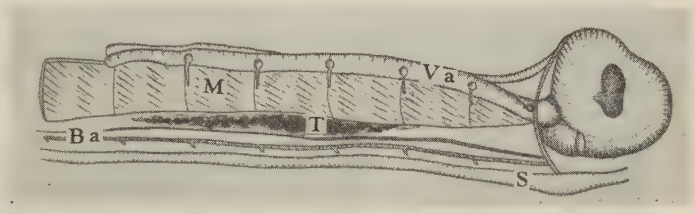
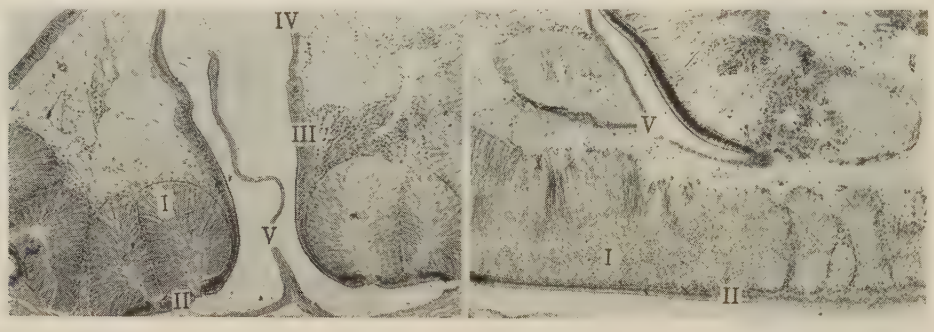


Fig. 2. Position and shape of thyroid gland of sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*. side view (× 3)
Ba. Basibranchial artery; M. Muscle; T. Thyroid; Va. Ventral aorta; S. Skin.

成魚の甲状腺は，腹動脈下のあつい筋肉層の腹がわにあり，その下には基鰓動脈が走り，皮膚と接している。それぞれの甲状腺沪胞を結んでいる結合織と，さらにこれらを包んだ横紋筋とは，細長い 13 mm の紡錘型の鞘を形成し，その範囲は内柱と同じように第Ⅰ鰓動脈の分岐付近から第Ⅴのそれの付近にわたつている。そして，内柱の中央室にあたる部分がもつとも肥厚しており，沪胞の存在は肉眼でも認められる (Fig. 2)。

組織　アンモシーテスの内柱は，左および右前内柱室，おなじく左右の後内柱室と中央室との 5 部からなる。本種の場合も，内柱室と鰓溝の上皮細胞は 6 型からなり，第Ⅰ型細胞はそれぞれの室の間充質の中に突出した 4 個の管を構成し，横断面では扇形に，縦断面では巾の広い帯としてみられる。この管は，内柱各室の背側方，背中央側，腹側方，腹中央側に位置する (Fig. 3)。細胞はいちじるしく高く，150～180μ におよぶが，輪郭は不明瞭である。そして，中央に大きな 1 個の仁をもつたまるい核がみられる。細胞質の中には，ヘマトキシリンで染まる集中性の糸状体があり，胞体は不規則な帯状のまま，合胞体（第 2 次多角細胞）となり，末端は繊維幹で終つている。第Ⅱ型細胞は第Ⅰ型細胞の繊維幹を結んでおり，その 1 部は第Ⅲ型および第Ⅴ型細胞と連絡し，移行的である。この細胞は柱状で，高さは 26～36μ に達する。核は卵形で，内柱室内側の一端に位置し密集しており，大きさは短軸 7μ，長軸 11μ のものが多い。細胞の基縁には，10μ 内外の繊毛帯がみられる。第Ⅲ型細胞は，間充質をとりかこんだ室の側壁を構成する 36μ におよぶ高い柱状細胞の索で，細胞の巾は 7μ ほどである。核はまるくて 6～7μ の径をもち，基縁のほう，すなわち発達した繊毛帯側に位置している。細胞の中には，黄色素顆粒がほかの細胞型（たとえばⅡ型）よりたくさん存在していることが特徴で，細胞質は微顆粒状の

うえに，微細線条にもみえる。一方，遊離縁がわは，いくぶん波状で，その直下に毛細管が走つている。第IV型細胞は，室の頂壁を形成する小部にみられるもので，高さは 22μ ほどにへつている。核は卵形で，細胞のほぼ中央に位置し，明瞭なクロマチンをもつている。基縁の方にある繊毛はごく少なくて，縁辺のあちこちに細胞核ようのものが突出していたり，遊離しているのがみられ，遊離縁はかなり波状を呈している。この型の細胞は，縦断切片では検索が容易でない。第 V 型の細胞は非常に低くて，11μ ほどの平坦に近い上皮細胞索を形成する。そして，被膜か屋根のように第 I ～第IV型細胞を覆つており，これらとの間は腔所となつている。すなわち，腔壁として周囲の平滑な筋肉層や脈管の裏打ちをしているわけである。この細胞は繊毛をもたないし，輪郭も不明瞭で，核の長径は 7μ であつた。第VI型は，内柱室と咽頭腔との連絡口や鰓溝壁を形成している高さ 26～36μ，巾 7μ の柱状細胞で，遊離縁の方は筋肉質の線状物を介して間充質を覆い，基縁には貧弱な繊毛帯がある。核は卵形でこみあつており，中心に 1 個の仁が存在している (Fig. 3, a·b)。



a　　b

Fig. 3. Photomicrographs of endostyle of sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*, to show various types of cells (I ～V).
a. cross section;　b. sagittal section. (× 100)

カワヤツメ成魚の甲状腺は，体重 1gr に対する重量は非常に少なくて 0.007 mg にすぎないが，この量は相当に筋肉や結合織をまじえた目方である。甲状腺沪胞は散逸性であるが，それでもアンモシーテス時代の前内柱室と後内柱室の端にあたる部分にはかたまつていて，かなりの数が認められる。この付近の沪胞は，筋肉層に挟まれてならんでおり，おのおの沪胞の間は結合織や脈管が充たしている。沪胞腔内にコロイドが存在しているのは，主としてこの付近のもので，アンモシーテス時代の中央室から咽頭腔への連絡口のあたりに相当する広い部域に存在する沪胞は，大きな腔所をもつているが，コロイドはみられない。すなわち，沪胞の形態は大体 3 種にわけられよう。 1 つは，甲状腺域の前および後部にある高い 36～40μ の柱状細胞からなる楕円状の沪胞で，沪胞腔は狭く，中央にはエオシン好染のコロイド塊が少量存在している。そして，このコロイドの中には血粒子と思われるものが散在していることがある。核は少し不整な楕円状で，長径が 5～7μ あり，細胞の中央よりわずかに基縁の方によつて位置している。細胞質中には，大小の黄色素顆粒が認められ，この沪胞が多分に第 III 型内柱室上皮細胞起源らしいことを現わしている。代表的な有膠質沪胞の大きさを Table 1 に示した。なお，沪胞上皮の基縁の一端が破れ，核が結合織中に移動している像がみられ，注目をひく (Fig. 4, a·b)。

Table 1. Size of thyroid follicles of sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*.

	Longer axis (μ)	Shorter axis (μ)
Range	105.27～406.56	58.08～116.16
Average	176.781	78.408

つぎに，沪胞の大きさは有膠質のものよりはるかにまさるが，上皮のいちじるしく低く 14～15μ のものがある。この細胞の核はまるくて 7～8μ であり，たいてい細胞の基縁のほうによつて位置しているが，場

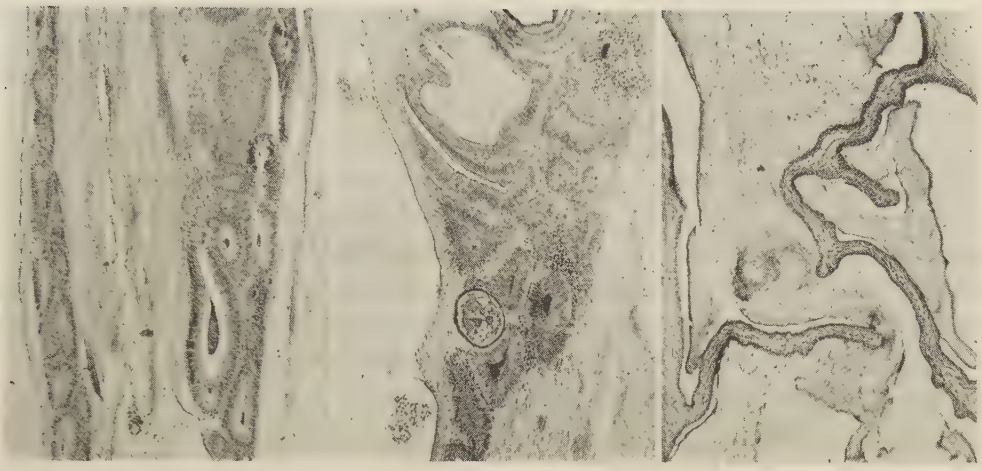


Fig. 4. Photomicrographs of thyroid gland of sea-lamprey, *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica*, to show various types of follicles.
a. small follicles in terminal region; b. medium follicles in middle region; c. large lumens in central region. (× 100)

所によつては沪胞腔側に近ずき，さらに上皮から離れて腔内にも散在している。一部の沪胞では，上皮が破れて核が結合織中に移行しているものや，逆に沪胞腔内に結合織が多量に侵入していることもある。そして上皮が破れた付近一帯は，広範囲にわたつて液状の様相を示していた。この場合，腔内には円滑なコロイドがなく，細網繊維状や網状構造の物質がみられる (Fig. 4, b)。甲状腺の中央域には，さらに低い立方状に近い細胞からなる上皮に囲まれた広大な腔所が存在している。腔内には，僅少の細網繊維状物質が認められるのみで，コロイドの貯蔵放出についての像は，うかがうことができない (Fig. 4, c)。

論　　議

LEACH (1939)[5] は，*Ichthyomyzon fossor* を材料として内柱上皮が6型の細胞からなり，このうち第Ⅳ型細胞が無管の準沪胞の形成にあずかるが，これも変態の進行につれて崩壊し，結局第Ⅱおよび第Ⅳ型の両細胞から甲状腺沪胞が生ずるらしいと述べている。しかし，GORBMAN 並に CREASER (1942)[4] は，主として第Ⅲ型細胞に放射性ヨードが多量に集まることを発表し，STERBA (1953)[9] は *Lampetra planeri* で第Ⅲ型細胞が甲状腺沪胞に変ることを報告した。OLIVEREAU (1956)[8] は，同じ *Lampetra planeri* で放射性ヨードを固定させ有機的に結合させるのが，まず第Ⅲ型および第Ⅴ型の細胞であり，第Ⅱ型細胞では少ないという。著者が組織学的に観察した日本産のカワヤツメでも，内柱と甲状腺の外部形状および内部構造は，欧米産のヤツメ類とほとんど異ならない。そして，組織学的には機能的甲状腺沪胞が，多分第Ⅲ型内柱上皮細胞を主体に生ずるらしいという所見がえられた。また，カワヤツメでも沪胞腔内に核が散在していたり，沪胞上皮が破れて核が腔外へ大挙移動していたりする像がみられるので，本種の甲状腺沪胞は全分泌型に属するものと思われ，この点も従来の研究者の報告と一致している。

いずれにしても，このようにしてできあがつた甲状腺は，LELOUP (1952)[6] も生殖期の *Petromyzon marinus* でのべているように，体重 1gr あたりの重量がごくわずかで，沪胞数も少なかつた。そして，沪胞群が第Ⅰ～第Ⅴ鰓嚢の付近に，結合織や筋肉質によつて鞘状に包まれている点に特色があるといえよう。一部の甲状腺沪胞の上皮が，きわめて高く活動的な像を示していたが，これがどのような意味をもつているのか (たとえば遡河という回遊行動や滲透圧調節などの生理的条件に関係しているのかどうか) は，今後実験的にたしかめてみたい。

要　　約

カワヤツメ *Lampetra* (= *Entosphenus*) *japonica* のアンモシーテス幼生の内柱，および溯河中の成魚の甲状腺の外部形態と内部構造とを観察した。

1. 幼生の内柱は，第Ⅰ～第Ⅴ鰓嚢の間に位置し5室からなり，内柱上皮には6型の細胞が区別できる。このうち，内柱室側壁を構成する上皮の第Ⅲ型細胞は，将来甲状腺沪胞上皮を作る細胞に変るらしい。

2. 成魚の甲状腺は，きわめて小さいもので，体重 1gr あたりの重量は 0.007mg にすぎない。これは，基鰓動脈の背方にある紡錘形状のもので，その範囲は第Ⅰから第Ⅴ鰓動脈の分岐付近にわたつている。

3. 成魚甲状腺の沪胞は，大きく分けて3群よりなる。甲状腺の前部および後部に位置し，高い上皮と狭い沪胞腔をもち，少量のコロイドしかみられないもの；上皮が低いのに，腔内に円滑なコロイドを欠くもの；甲状腺の中央部に位置し，広大な腔所をもつが，コロイド分泌の兆候のないものである。

カワヤツメの甲状腺沪胞は，全分泌型と考えられる。

文　　献

1) 本間義治：科学，**30**，206 (1960).
2) ―― ――：魚雑，**8**，29，(1960).
3) Gorbman, A.: *Physiol. Rev.*, **35**, 336 (1955).
4) ――― and C. W. Creaser: *J. exp. Zool.*, **89**, 391 (1942).
5) Leach, W. J.: *J. Morphol.*, **65**, 549 (1939).
6) Leloup, J.: *J. Physiol.* (Paris), **44**, 284 (1952).
7) Olivereau, M.: *C. R. Assoc. Anat.*, **42** Réunion, 1113 (1955).
8) ―――：*ibid.*, **43** Réunion, 636 (1956).
9) Sterba, G.: *Wiss. Ztschr. Friedr.-Schiller-Univ.* (Jena), **2**, 239 (1953).

追記：本稿校正中に送られてきた次の報文の中に，すでに著者と同じ事実も述べられているのを知つた。
Clements, M.：*J. Morph.*, **103**, 337, 357 (1960).

THE DISTRIBUTION OF STRESS ON A FISHING NET—III. A STUDY ON FISHING NET WITH A CERTAIN BAR BROKEN

Yasushi KONDO*

(Received Oct. 24, 1960)

I. Introduction

It is a common fact that we observe and experience daily when one point of a fishing net is pulled by a certain force, the force travels through the bars and knots of the net and spreads over a large area of it. To know the physical condition of the propagation and distribution of such a force over the net is an essential and indispensable fundamental knowledge not only in the design of fishing gears, but also in the fishing with these. Researches on such a branch of science, however, have been very few formerly, and we have come to the present time with a very uncertain and unclear knowledge of it. The cause of such a state of affairs is conceivable that there has been no suitable method of measurement for it.

The writer with the colaboration of his colleaques has already published in this bulletin that he established a method of measuring the tensile strength distributed over the net by means of an electric strain gauge. In Report I the author reported that the form of the distribution of tension over fishing nets of various kinds with a concentrated statical load is a lozenge with the load working point as its center and has also given an equation showing the fall off of tension on the diagonal line of the lozenge. In Report II the author also reported that when an impact load of a concentrated dynamical load worked, the forms of the distribution of the tension and its fall off were fundamentally similar to that with a static load.

As mentioned above, the actual condition of the distribution of tension over a complete net could be made clear. But a net consists of numerous bars and knots and it frequently happens that one of them is broken. Under such a condition how the fundamental form of the distribution of tension changes is an important matter in the application of theory. The writer, therefore, wishes in this paper to report the results of his experiment on the distribution of tension when a certain bar of a net is broken.

II. Method of Experiment

Of the nets used in the experiment, cotton cords made of short fibers were used for some nets, and they were of $20's$, 3/60, flat knot, trawler knot and of $20's$, 2/60, knotless. Some others were made of endless filaments Saran (synthetic fibers of polyvinylidene chloride), and they were of $1{,}000^D$, 3/18 trawler knot and of $1{,}000^D$, 2/22 knotless. These nets were all new and machine made and the length of two bars was 12.12 cm.

* Tokyo Uiniv. Fish., Shiba Kaigandori-6, Minato-ku, Tokyo, Japan (東京水産大学).

The method of the experiment was similar to that reported in Report I. The net under test was stretched over a frame, 2 m. × 2 m. and a load was put by hanging a weight of 10 Kg. on a knot in its center. In stretching the net over the frame, shortening was taken at 29.5% and the net was so loosened that its central part would hang down about 10 cm. as in Report I. For the measurement of tension a net cord tension meter with the electric strain gauge was used, as had preliminary been reported.

III. Experiment Results and Observations

1. Form of tension distribution:

By using the results obtained with a net of cotton, 20's, 3/60, flat knot, 12.12 cm. bars, the conditions of the tension distribution of the net plotted over points of equal values are as shown in Fig. 1.

Let the net cords which are directly tied to the knot on which a weight is hung in the center of the net be called the line of the main bars, then,

Fig. 1. (A) is far from the working point of the load and not on the line of the main bars and is more like the tension distribution of a general case where a bar is broken. In this case the fundamental form of tension distribution shows little change and only the tension of the surrounding bars more or less increases in order to supplement the blank space produced by the broken bar.

Fig. 1. (B) is on the line of the main bars, but it is a case where a bar in a short distance from the working point of the load, that is the fifth bar is broken.

Fig. 1. (C) is the case where the first bar on the line of the main bars, that is one of the four bars suspending the load.

In the cases of (B) and (C) almost no tension is distributed on the bars beyond the broken place. Instead of that, directly neighbouring bars parallel to the broken

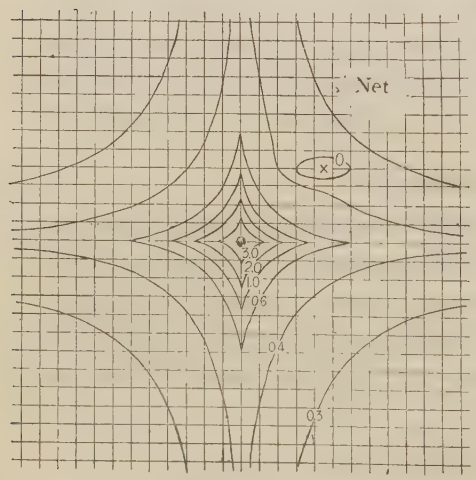


Fig. 1. (A)

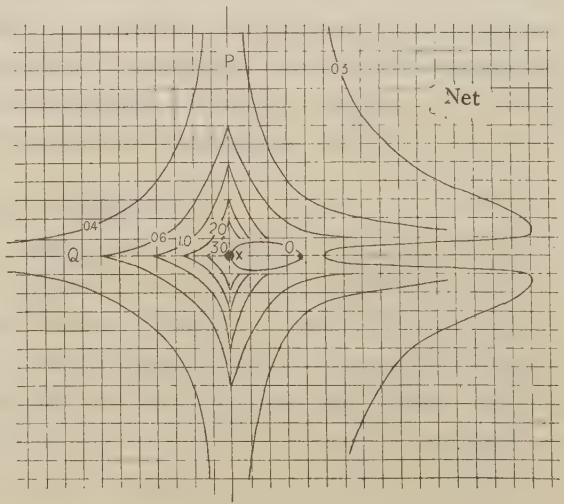


Fig. 1. (B)

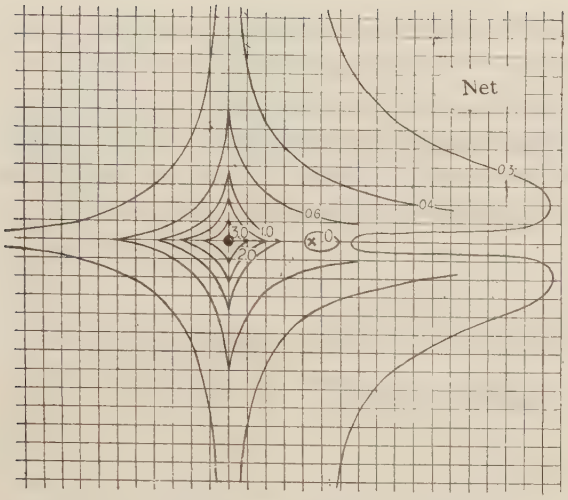


Fig. 1. The distribution of tension.
Mark: × a broken bar
〃 : ● a knot on which statical load was imposed vertically to the net
Shortening of the net: 29.5%

Fig. 1. (C)

bar bear the tension and it becomes a form like a blank space inserted at a point of the fundamental form of tension distribution. But in no other part than this point the fundamental form undergoes much change. Of the three forms, in the case of (C) in which a greater change occurs the fall off of tension may be expressed as in the case reported in Report I by the following equation:

$$\frac{T}{W}=K_l+K_a \exp -k(n-1)$$

2. The weight of load and tension distribution:

With a net of cotton 20'^{s}, 3/60, trawler knot, 12.12 cm. mesh and the first bar on the line of the main bars broken, experiments were conducted with loads of 10 Kg.,

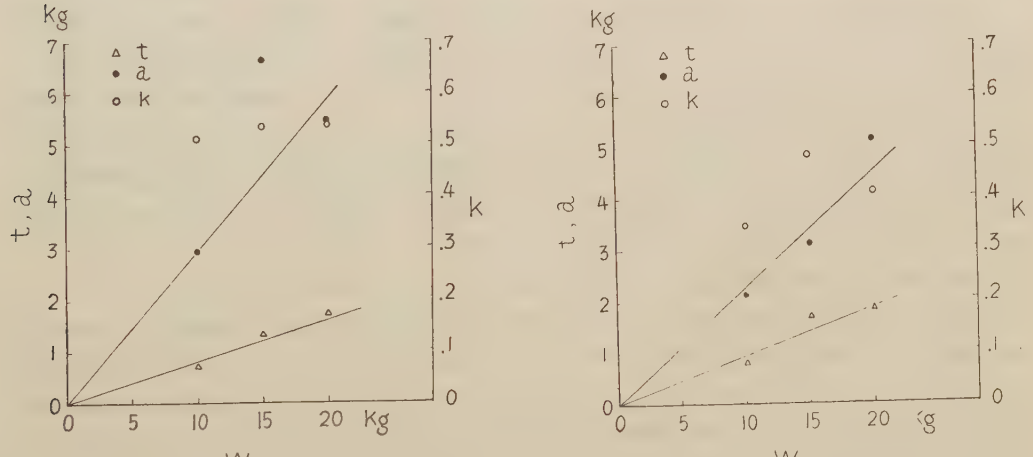


Fig. 2. Relation between t, a, k and statical load (W).
(A): on the line of main bars (P)
(B): on the line of main bar (Q)

15 Kg. and 20 Kg. hung, respectively. Fig. 2 shows the relation between the loads and t, a, and k of the equation of experiment.

From the above figure it will be seen that on any line of bars t and a are proportional to the weight of load and k may be deemed as constant in the sphere of this experiment. That is, from these facts it may be seen that the form of tension distribution does not vary with the weight of load and that the tension may be deemed almost proportional to the weight of load.

3. Difference of tension propagation by the kind of net:

With various kinds of nets tension measurements were conducted for the case of the first bar broken on the line of the main bars. Coefficients of experiment equation are shown in Table 1.

Table I. Coefficients K_t, K_a and k.

Kind of material	Dimension of the thread and the mesh size			Kind of knot	K_t	K_a	k	Line of main bar
Cotton	20's	3/60	12.12 cm	Flat	0.06	0.25	0.67	P
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.07	0.29	0.51	〃
〃	〃	2/60	〃	Knotless	0.09	0.28	0.47	〃
Saran	1000 D	3/18	〃	Trawler	0.15	0.37	0.51	〃
〃	〃	2/22	〃	Knotless	0.20	0.38	0.56	〃
Cotton	20's	3/60	〃	Flat	0.02	0.22	0.43	Q
〃	〃	〃	〃	Trawler	0.08	0.21	0.35	〃
〃	〃	2/60	〃	Knotless	0.12	0.14	0.41	〃
Saran	1000 D	3/18	〃	Trawler	0.15	0.16	0.47	〃
〃	〃	2/22	〃	Knotless	0.20	0.14	0.41	〃

In the above table should the characteristics of nets of various kinds be compared, it will be known that the tension distributed is greatest in knotless nets among all and that it is most widely distributed. The trawler knot net comes next and the flat knot net is the least, and these facts are the same as reported in Report I. Comparing by the natures of materials the nets made of Saran which is of long fibers have both the greatest tension distributed and a smaller coefficient of decrease than the nets of cotton which is of short fibers.

The tension distribution in unbreakable nets is originally symmetrical with the working point of load as the center, but if one bar is broken, the tension that is to be on the line of the bar will move to the bars on both sides and as effect the tension on the line of the main bars will more or less be changed. By this it is clear by Fig. 1. and Table 1 that the symmetry is broken and is deformed. Let the main bar lines including the broken bar and their extensions be represented by Q and the main bar lines perpendicularly crossing them be P, then the degree of deformation by comparing the tensions on the first bars on the lines of P and Q will be as follows:

While P/Q is 1.25 in the nets of flat knots and trawler knots, it is 1.43 and 1.71 in knotless nets. This fact shows that the tension on the side of the bars perpendicularly crossing the broken bar is moved more than usual. These large P/Q values are not of the nature preferable. Observed by the difference of the materials of nets, the cotton net has a value of about 1.35 and the Saran net about 1.65.

By the results obtained in the foregoing experiments on various kinds of nets it has become clear that the characteristics of respective nets would not either disappear or change and that they would be maintained as was reported in Report I.

References

1) H. Kusama, Y. Kondo and M. Suzuki: The distribution of stress on the fishing net. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish , Vol. 21, No. 9, 1956.

2) Y. Kondo, and M. Suzuki: The distribution of stress on the fishing net. —— I On the statical load. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., Vol. 25, No. 7, 1959.

3) Y. Kondo and M. Suzuki: The distribution of stress on the fishing net. —— II On the impact load. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., Vol. 26, No. 6, 1960.

STUDIES ON THE RESPIRATION OF THE "KURUMA" PRAWN *Penaeus japonicus* BATE—I. BURROWING BEHAVIOUR, WITH SPECIAL REFERENCE TO ITS RELATION TO ENVIRONMENTAL OXYGEN CONCENTRATION.

SYUZO EGUSA* and TADASU YAMAMOTO**

(Received Nov. 26, 1960)

The "Kuruma" prawn, *Penaeus japonicus* BATE, is one of the most important commercial decapod crustaceans in this country. This pawn commands the highest price among shrimp and prawns found in the market and is now being cultivated on a commercial scale. It goes without saying that the cultivation of aquatic animals requires knowledge on their behaviour, metabolism, or water quality requirements. As for this species of prawn, however, little work has been done on these problems.

It is well known that the "Kuruma" prawn has the habit of burrowing, passing the daytime in a quiescent state buried in the sand. At what depth and in what posture does it burrow? Under normal environmental conditions in the daytime it hardly appears on the sand. But when the environmental oxygen concentration is decreased markedly, it creeps out of the sand. This phenomenon was first observed by the authors during experiments on the oxygen consumption of this prawn. At what oxygen concentrations does it start creeping-out movements? The present paper in this series deals with observations and experiments on these problems.

The investigations were carried out in October 1960, at the Fisheries Laboratory, of the University of Tokyo at Ikawazu, Aichi Prefecture. Prawns were obtained from the shoals nearby. They were kept for a few days in a large tank with sand on the bottom in running water and were fed on fish or shellfish every night before being used. They were observed to be vigorous and healthy. The temperature of the tank was varied between 26 and 28° C, and the chlorinity ranged from about 15 to 16‰. Experiments were all performed at similar temperatures and chlorinities. The weights of prawns used in experiments ranged from 3 to 17 gm.

I Normal burrowing posture

1) Methods

A basin with a wide outlet near bottom was used in experiments. Its bottom was covered with well washed sand to a depth of about 15 cm. The approximate particle-size composition of the sand used was as follows:

* Faculty of Agriculture, the University of Tokyo.
** Taiheiyo Yogyo Co., Ltd.

Size grade (mm)	Weight frequency (%)
0.5—1.0	29
0.25—0.5	58
<0.25	13

The basin was supplied with flowing well aerated sea water. In the basin thus prepared prawns were placed. Immediately they began to dig in the sand and in most cases concealed themselves in it within a few minutes.

After a few hours the water flow was stopped and the water of the basin was drained rapidly by using a siphon until the surface of the sand was exposed. The outlet was then opened to allow the water existed in the sand layer to flow out. Usually the drainage finished within about a score of seconds. Prawns seemed hardly to move during this short period of draining and after that. Then excavation was begun. When a prawn was detected, the sand on the side of it was removed slowly in such a way that the prawn's posture could be observed clearly. Somewhat surprisingly, in most cases, prawns stood still during removal of sand, unless being disturbed by a violent hit. Observations were made on about twenty animals weighing 3 to 17 gm.

2) Results

In the normal burrowing posture the abdomen lay more or less horizontally, though the posterior part tended to be raised slightly (Pl. I, Fig. 1). Generally the dorsal surface of the abdomen was covered to a depth less than about 3 centimeters, although there was found a tendency for smaller prawns to bury themselves more deeply in proportion to size than larger ones.

The cephalothorax was inclined upwards. The opening of the respiratory siphon, which was formed by the antennules and antennal scales together, was directed toward the surface of the sand, being found usually from a few millimeters to about one centimeter under the surface. The long second antennae were buried along the lower sides of the body.

By using carmine particles it was observed that water was sucked in the sand just above the opening of the respiratory siphon. So it is inferred that water is inhaled in the respiratory siphon via the sand layer above its opening and after passing through the branchial chamber escapes under the edge of the branchiostegite. It was of interest to note that a small cavity was often found to be formed just under the thorax (cf. Pl. I, Fig. 1). This cavity seems to serve for ventilation. Occasionally the flow passing down the respiratory siphon was reversed. This reversed flow was revealed by a small area of agitated sand particles (cf. Pl. I, Fig. 2-b). The above mentioned burrowing posture and respiratory current are much the same as those of *Metapenaeus mastersii* which were reported in detail by DALL.[1]

II. Changes in the posture of the prawn at low oxygen concentration

1) Methods

A closed glass chamber which measured 30 cm. in diameter and 15 cm. in depth and was provided with a stirring apparatus was used in experiments. The bottom of the chamber was covered to a depth of about 12 cm. with the same sand as was used in above experiments. The chamber was supplied with well aerated sea water. After samples of prawns were placed in the chamber the rate of water flow was reduced to a degree which was insufficient to overcome the oxygen depleting effects of the animal's respiration. In some of the experiments the rate was increased gradually or rapidly after most of the animals had creeped out of the sand. In some other cases the rate was adjusted in such a way that the oxygen concentration would fluctuate in the neighbourhood of 1.0 or 0.5 cc/1, because it was shown by preceding experiments that these two concentrations seemed to be significant for prawns. In all experiments analyses of the oxygen content of the water flowing from the experimental chambers were made at intervals of about half an hour or less.

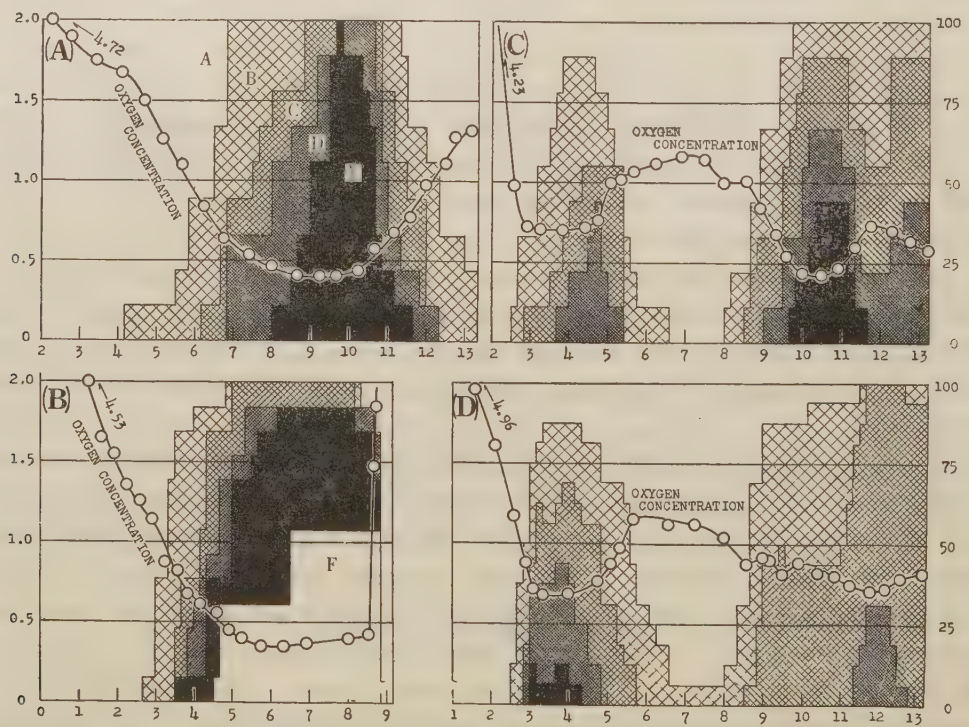


Fig. 1. Changes in the condition of prawns at low oxygen concentrations. (A), experiment on 9 large prawns (12-16 gm.); (B), experiment on 13 small prawns (3-5 gm.); (C), experiment on 9 large prawns (10-17 gm.); (D), experiment on 16 small prawns (3-6 gm.). Ordinate (right), percentage of individuals of prawns which were in each of the conditions A, B, C, D, E, and F (for description see text) (%); ordinate (left), oxygen concentration (cc/1); abscissa, time elapsed (hour). Figure in body of graph indicates incipient oxygen concentration.

It was shown by a preliminary observation that the state of the prawn under low oxygen concentrations could be divided into the following six conditions (cf. Pl. I, Fig. 2):

Condition A. A prawn conceals itself completely in the sand, without exposing any parts of the body.

Condition B. The tip of the respiratory siphon is protruding above the sand.

Condition C. The eyes are protruding.

Condition D. The cephalothorax is protruding partially or entirely.

Condition E. A prawn has come out of the sand and crawls, swims, or leaps in an uneasy, aimless fashion.

Condition F. A prawn suffers a loss of equilibrium (or is in a dying state).

In accordance with this scheme of division the number of prawns in each condition was recorded in the present experiment. Observations were carried out more or less continuously through the course of the experiment.

Experiments were performed in a light glass house. They were all started early in the morning and usually finished before dark. In cases in which experiments were continued till night they were conducted under two 200-watt electric lamps.

2) Results

Typical records of experiments are given in Fig. 1(A)-(D). Figure 1(A) shows that prawns remained concealed in the sand (Condition A) until the oxygen concentration was reduced to about 1.0 cc/l (at this temperature and chlorinity about 20% saturation). Below this level the tip of the respiratory siphon peeped out on the surface of the sand (Condition B). When the oxygen concentration was lowered to about 0.8 cc/l the rostrum and eyes began to appear (Condition C). A further decrease in the oxygen concentration was accompanied by the protrusion of the cephalothorax (Condition D). It was observed that in this stage water was still inhaled into the brancial chamber via the respiratory siphon and escaped under the anterior edges of the carapace.

Finally prawns creeped out entirely of the sand and began to show signs of respiratory distress shortly (Condition E), when the oxygen concentration was reduced below 0.5 cc/l (about 10% saturation). As is shown in the figure, the effects of limited respiration of prawns at a level a little below 0.5 cc/l tended to be counteracted by the small introduction of aerated water.

In this experiment the rate of water flow was increased after most prawns had come out of the sand. No sooner had the oxygen concentration recovered than prawns started digging movements, and most of them had sunk in the sand before the oxygen concentration reached to 1.0 cc/l.

Figure 1(B) is a record with smaller prawns weighing 3 to 5 gm. In comparison with the case mentioned above, prawns in this experiment tended to emerge out of the sand at a little higher oxygen concentrations. Besides it cannot be overlooked

that at oxygen concentrations a little less than 0.5 cc/1 death occurred. These differences in sensitivity or resistance to low oxygen between the two cases seem probably to be due to difference in size of animal. That is to say smaller animals tend to be more sensitive or less resistant to oxygen deficiency than larger ones. The same tendency was observed in the following experiments, too.

Figure 1(C) and 1(D) show representative records of experiments in which the oxygen concentration was made to fluctuate in the neighbourhood of 1.0 to 0.5 cc/1. Certain generalization may be drawn from these records.

(1) Oxygen concentrations above 1.0 cc/1 is sufficient to allow prawns to remain concealed in the sand.

(2) Prawns hardly creep out of the sand at oxygen concentrations above 0.7 cc/1, though they protrude the respiratory siphon, and sometimes the cephalothorax above the surface of the sand.

(3) At oxygen concentrations below 0.5 cc/1 they emerge out entirely of the sand.

From this series of experiments, it may be concluded that there are found two kinds of critical oxygen levels for the "Kuruma" prawn. One is a level below which the prawn projects the respiratory siphon above the surface of the sand. This level, however, seems to fail to cause mortality, even if it continues for several hours or more. The other is a level below which the prawn emerges out entirely of the sand. It appears that below this level dyspnoea develops. These two levels for prawns weighing about 10 gm. or so at about 27°C were approximately 1.0 and 0.5 cc/1 respectively.

The authors wish to express their gratitude to Professor Yasuo Ohshima of the University of Tokyo for his interest and encouragement.

Summary

A description is given of the normal burrowing posture of the "Kuruma" prawn, *Penaeus japonicus* Bate in connection with its ventilation.

Experiments show that when the environmental oxygen concentration is reduced below 1.0 cc/1 prawns project their respiratory siphons above the surface of the sand and when it is reached to 0.5 cc/1 they come out entirely of the sand and dyspnoea develops.

References

1) W. Dall: Observation on the biology of the green tail prawn *Metapenaeus mastersii* (Haswell) (Crustacea, Decapoda, Penaidae). *Australian J. Marine and Freshwater Research* **9** (1), 111–134 (1958).

Explanation of Plate 1

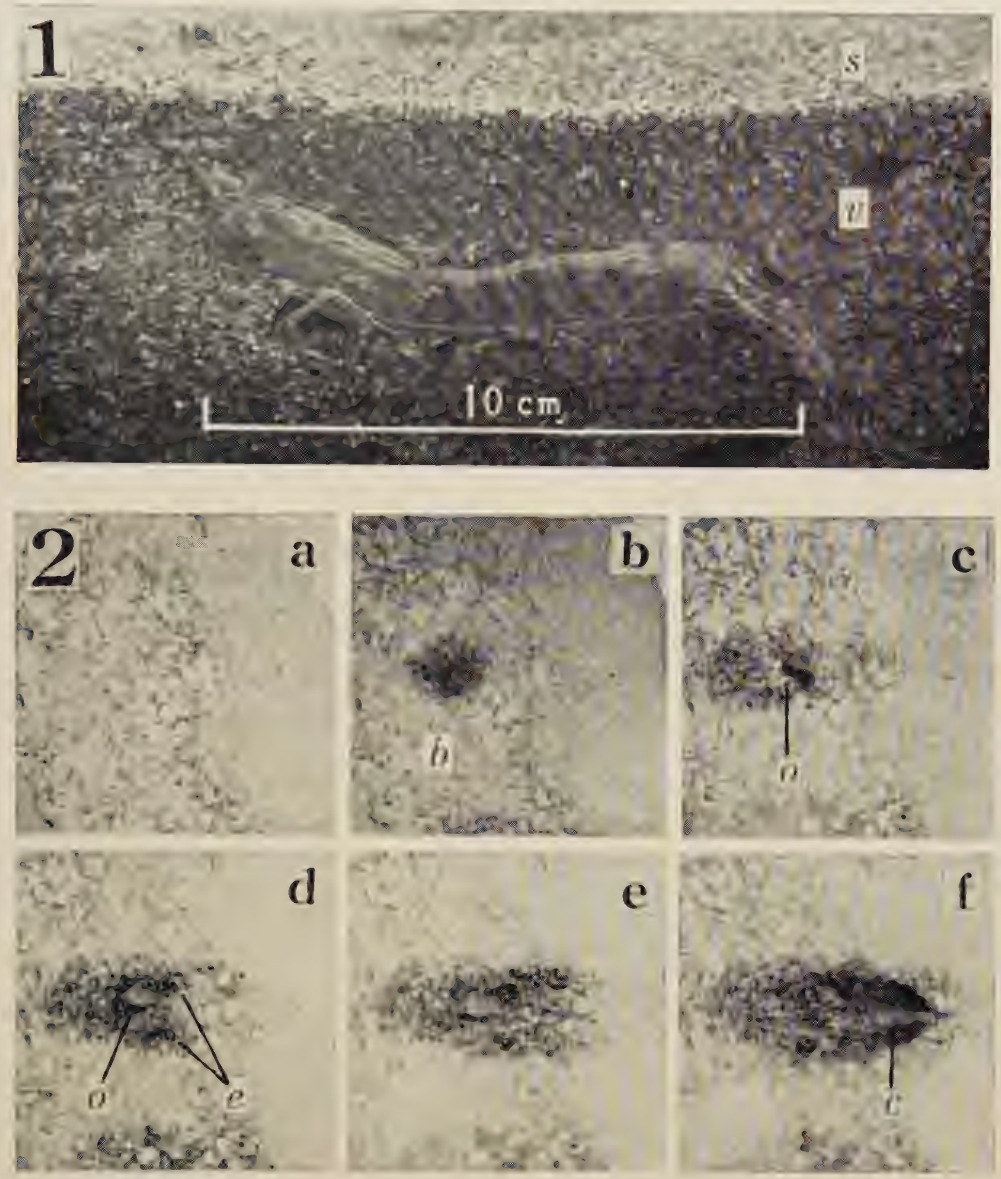


Fig. 1. The normal burrowing posture of *Penaeus japonicus* BATE. *s*, surface of the sand; *v*, vertical section of the sand.

Fig. 2. Changes in the burrowing posture of *P. japonicus* with decrease in environmental oxygen concentration. All photographs are taken from the same area of the surface of the sand and the same individual prawn. For convenience of photographing the surface of the sand was covered thinly with marble sand after the prawn had creeped in the sand. a, the prawn has concealed itself in the sand (Condition A); b, a small amount of sand has been thrown up on the surface of the sand by the reversed flow from the respiratory siphon; c, the opening of the siphon has peeped on the surface of the sand (Condition B); d, the anterior part of the respiratory siphon and eyes have appeared (Condition C); e, the anterior part of the cephalothorax has been projected above the sand (Condition D); f, the greater part of the cephalothorax has been protruded above the surface of the sand (Condition D. After a few minutes the prawn got out entirely of the sand.). *b*, blown up sand; *o*, opening of the respiratory siphon; *e*, eyes; *c* cephlothorax.

魚肉の褐変に関する研究—Ⅳ.

糖と二, 三のアミノ酸との加熱による褐変

永山文男

(1960 年 8 月 18 日受理)

STUDIES ON THE BROWNING OF FISH FLESH—IV. BROWNING OF SUGAR WITH CERTAIN AMINO ACIDS BY HEAT

Fumio Nagayama*

Ultraviolet absorption spectra, fluorescence, and some characteristics on paperchromatography were observed on sugar solution in 0.1 M phosphate buffer, pH 6.8 (0.05 M) after autoclaving for one hour at 115° in the presence of amino acid 0.05 M)

Among four amino acids (arginine, lysine, histidine and glycine), lysine shows the strongest accelerating effect for production of brown color and ultraviolet absorption (Table 1). Ultraviolet absorption maximum is found in the region between 268 to 295 mμ (Figs. 2 and 3), and the spectra were considered similar to that of reductone rather than furfural.

By paperchromatography using *n*-butanol-acetic acid-water, (4 : 1 : 2), the following points were investigated: 1) By ninhydrin, no spot is detected other than amino acid. 2) Amino acid and sugar produce fluorescence without loss of their characteristics as R_f and reactivity for spot detection. 3) Most of brown color is not developed, while fluorescence is moved as same as sugar and amino acid. 4) Inorganic ortho phosphate does not combine with sugar, amino acid, or other reaction products.

前報で，各種のアミノ酸と糖との加熱に伴なう褐変度，螢光度，糖およびアミノ酸の量的変化などについて報告したが[1]，天然物の状態に近い pH 6.8 の燐酸緩衝液中の糖-アミノ酸系の褐変機構ならびに反応生成物を明らかにするために，前回の実験で褐変度の大きかつたリジン，アルギニン，ヒスチジン，およびグリシンの 4 種のアミノ酸をそれぞれ糖とともに加熱して，褐変液の種々の性質を検討した。

実　　験

試料および処理方法　試料はすべて市販の特級試薬をそのまま用いた。各試料は pH 6.8 の 0.1M 燐溶塩緩衝液に，糖とアミノ酸を各 0.05 M になるように溶解し，アンプルに封入して 115° で 1 時間加圧蒸煮した。

吸光，螢光の測定　可視部の吸光は反応液をそのまま 0.5 cm のセルを用いて測定し，紫外部の吸光は蒸留水で 50 または 100 倍に稀釈して 1 cm のセルを用いて測定した。

また反応液を 0.1 N H_2SO_4 で 25 倍に稀釈して，0.1 N H_2SO_4 に溶解した 1 p.p.m. の硫酸キニーネ溶液を標準液として比螢光を求めた。

ペーパークロマトグラフ　東洋沪紙 No. 51 を用い，主として *n*-ブタノール・酢酸・水 (4 : 1 : 2) で室温，下降展開した。

検出剤　1) aniline hydrogen phthalate[2]. アニリン 930 mg, フタノール酸 1.6g を水飽和 *n*-ブタノール 100 ml に溶かす。噴霧した沪紙を乾燥し 105° で 5 分加熱するとグルコースは赤褐色，リボースは鮮紅

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

色のスポットを与える。 2) triphenyl tetrazolium chloride (TTC)[3]. N-NaOH と 2% TTC 水溶液の各等容混合液。噴霧した沪紙を乾燥しないようにして 20～30 分保ち，紅色のスポットが明瞭に現われたら水洗する。還元糖が検出される。 3) 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DPH)[4]. 稀塩酸に飽和。アルデモド，ケトンなどの検出に用いる。 4) ninhydrin. 常法の通りアミノ基の検出。 5) molybdate reagent[5]. 4% モリブデン酸アンモン 25 ml, N-HCl 10 ml, 70% 過塩素酸 5 ml, 水 60 ml を混合する。噴霧した沪紙をマナスルライト (2536 Å) で数分照射する[6]。燐酸が青色のスポットを与える。 6) 螢光検出はマナスルライト (3650 Å) による。

結果および考察

褐色度と螢光　加圧蒸煮による糖-アミノ酸溶液の褐変度は糖の種類によつても異なるが，4 種のアミノ酸を比較すると，前報に述べたようにリジンが最も褐変度が大きく，グリシンがこれに次ぎ，ヒスチジン，アルギニンの順になるが，400 mμ から 520 mμ の間の吸光曲線をみると，ヒスチジンがやや特異的な傾向を示している (Fig. 1)。また着色物質の前駆体として螢光物質が生成することが知られているが[7]，本実験で得た褐変液の螢光度は Table 1 にあげたように，ヒスチジンの試験区が最も強く，他の 3 種のアミノ酸の約 2 倍の値を示した。褐変度の順位と螢光度の順位が一致しないが，このことは，螢光体が着色物質の前駆体であるとすれば，アミノ酸の種類により糖との褐変反応の進み方に段階的な差のあることを想定させるものである。

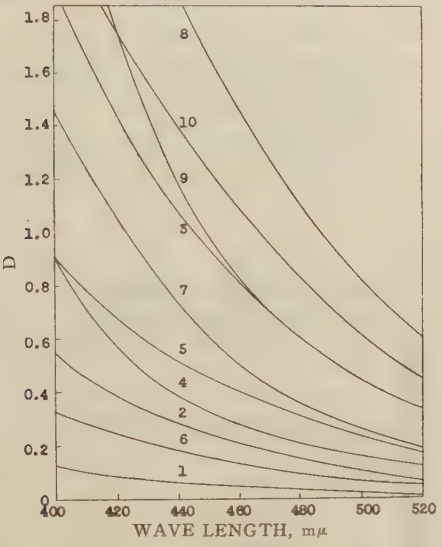


Fig. 1. Absorbance of autoclaved solution of sugar-amino acid in phosphate buffer, pH 6.8. 1, glucose; 2, glucose-arginine; 3, glucose-lysine; 4, glucose-histidine; 5, glucose-glycine; 6, ribose; 7, ribose-arginine; 8, ribose-lysine; 9, ribose-histidine; 10, ribose-glycine.

Table 1. Absorbance and fluorescence of sugar-amino acid solution after autoclaving. Absorbance was measured by the using of 5 mm-cuvette, and relative fluorescence was measured on 25 times diluted solution with 0.1 N H_2SO_4 being compared with 1 p.p.m. quinine sulfate solution.

Sugar	Amino acid	Absorbance 430 mμ	Absorbance 490 mμ	Fluorescence %
Glucose	None	0.074	0.026	2.5
	Arginine	0.330	0.125	38.0
	Lysine	1.22	0.520	46.1
	Histidine	0.463	0.176	72.2
	Glycine	0.589	0.269	34.8
Ribose	None	0.203	0.081	5.0
	Arginine	0.865	0.300	39.0
	Lysine	2.20	0.945	35.4
	Histidine	1.42	0.513	78.9
	Glycine	1.57	0.708	40.5

紫外部吸収　糖-アミノ系の褐変反応において，反応の中期に入ると，277～285 mμ のいわゆるフルフラール領域に $\lambda_{max.}$ をもつ物質 (フルフラールあるいはハイドロキシ・メチルフルフラール) の生成がみられることは既往の多くの研究によつて明らかであるが[7]，本実験の褐変液の紫外部吸収スペクトル (Fig. 2 と 3) をフルフラールのスペクトル (Fig. 4) と比較すると，かなり異なつた性質を示し，しかも $\lambda_{max.}$ は 268～295 mμ の間に分散している。このようなスペクトルの性質はむしろアミノ酸の存在しない糖溶液の褐

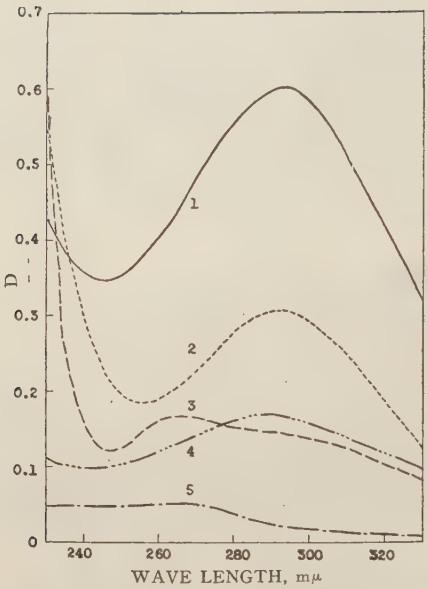


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of glucose solution in 0.1M phosphate buffer, pH 6.8, after autoclaving in the presence or the absence of amino acid. (× 50).
1, lys.; 2, arg.; 3, his.; 4, gly; 5, none.

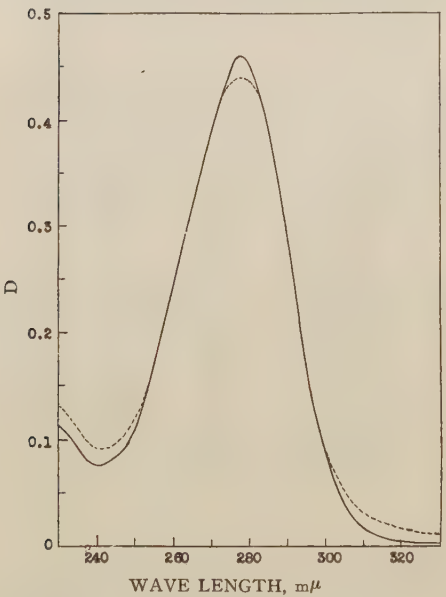


Fig. 4. Ultraviolet absorption spectra of furfural and furfural-lysine solution after autoclaving at 120°. Solid line, furfural; dotted line, autoclaved furfural-lysine solution.

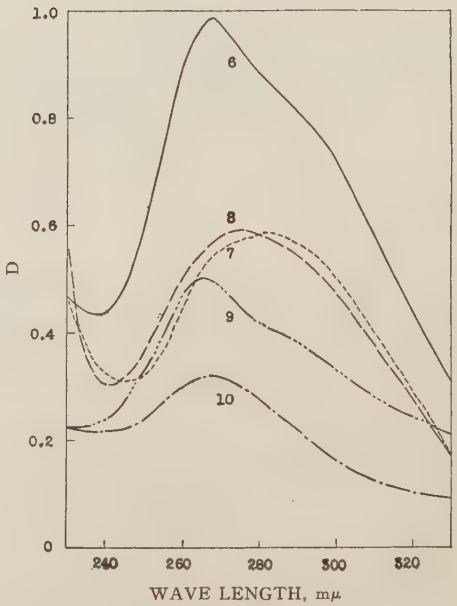


Fig. 3. Ultraviolet absorption spectra of ribose solution in 0.1M phosphate buffer, pH 6.8, after autoclaving in the presence or the absence of amino acid. (×100).
6, lys.; 7, arg.; 8, his.; 9, gly; 10, none.

Taale 2. Absorption maximum in ultraviolet region of the sugar-amino acid solution after autoclaving.

Sugar or aldehyde	Amino acid	$\lambda_{max.}$ mμ
Glucose	None	268
	Arginine	295
	Lysine	295
	Histidine	268
	Glycine	290
Ribose	None	268
	Arginine	283
	Lysine	268
	Histidine	273
	Glysine	268
Furfural	None	277
	Lysine	277
	Glycine	277

変について報告されているような三炭糖レダクトンのスペルトル[8]に近いものではないかと考えられる。したがつて燐酸塩の共存下に起る糖-アミノ酸の褐変反応においては，反応中間体として，フルフラールよりもレダクトンが優位を占める可能性を想定できるが，なお分析的な検討を要する。

$\lambda_{max.}$ における吸光度を比較すると，グルコースの試験群ではリジンを添加したものが最も大きく，アルギニン，グリシン，ヒスチジン添加のものはリジンの 1/2 以下である。一方，リボースの試験群でもリジンが最も吸光度が大きく，アルギニンとヒスチジンがこれに次ぎ，グリシンはやや低い。リボースの試験群はグルコースの試験群の約 2 倍の吸光度を示した。

褐変液のペーパークロマトグラフ　褐変液を *n*-ブタノール・酢酸・水 (4 : 1 : 2) で下降展開し，二，三の性質を検討した (Figs. 5, 6, 7)。

ニンヒドリン反応についてみると，フルフラールの試験群ではアミノ酸に相当するスポットの他に，アミンと推定される R_f のやや大きいスポットがみられるが (Fig. 7)，糖-アミノ酸では，アミノ酸に相当するスポットだけが検出され，それ以外にはニヒドリン反応に陽性な物質は検出されなかつた (Figs. 5, 6)。

ヒドラジンによるヒドラゾンのスポットは，リボースの試験群ではアミノ酸および糖に相当する二点に明瞭に認められたが，グルコースの試験群ではグルコースに相当する位置に明瞭にスポットがあり，アミノ酸の位置には反応が現われず，糖，アミノ酸のいずれにも一致しない位置にやや不明瞭なスポットがみられた (Fig. 5)。

TTC の還元による紅色のスポットは，リボースの試験群ではリボースおよびアミノ酸に相当する位置に明瞭に現われたが，グルコースの試験群ではグルコースに相当する点が不明瞭であり，アミノ酸よりも R_f の小さい位置にやや不明瞭な一つのスポットを与えた (Fig. 6)。糖-アミノ酸液ではフルフラール (Fig. 7) にみられるような展開先端に近い位置には TTC 反応は認められなかつた。純粋のリジン，アルギニンおよびグリシンはいずれも TTC に対し鮮明な紅色のスポットを与えるが，ヒスチジンは呈色度が極めて低い。リジンおよびヒスチジンをグルコースとともに加熱すると，ヒドラジンおよび TTC に陽性，アニリン，ニンヒドリンに陰性で R_f がアミノ酸よりも小さくやや螢光を示す物質が生成するように思われた。

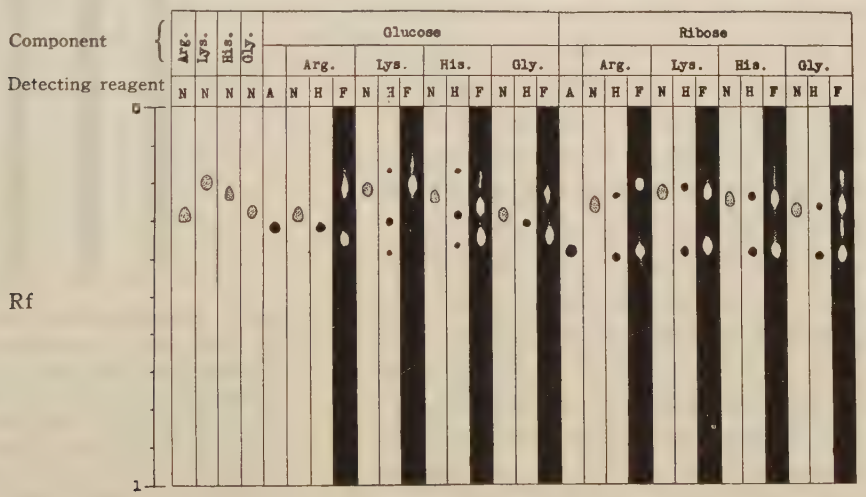


Fig. 5. Paperchromatograms of the mixtures of sugar and amino acid after autoclaving, developed by butanol-acetic acid-water, 4 : 1 : 2 (descending, 20～25°).
Methods of spot detection are abbreviated as follows: N, nin-hydrin; A, aniline hydrogen phthalate; H, 2, 4-dinitrophenyl-hydrazine; F, fluorescence.

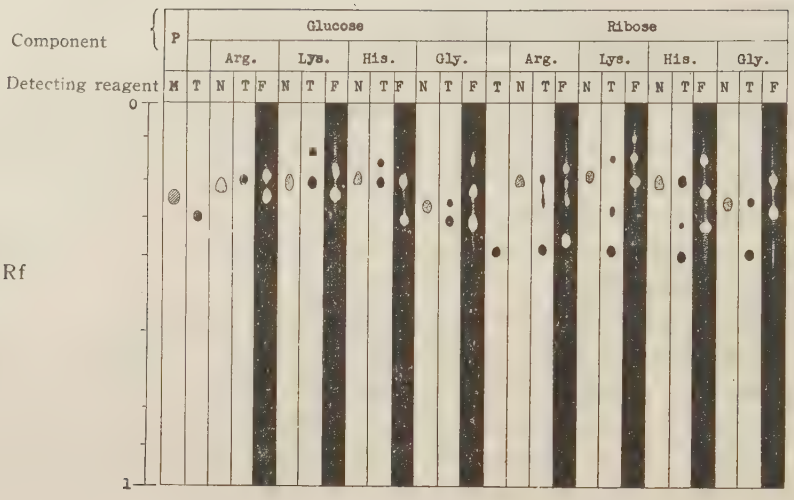


Fig. 6. Paperchromatograms of the mixtures of sugar and amino acid after autoclaving. M, molybdate; T, triphenyl tetrazolium chloride; P, inorganic phosphate.

展開した沪紙を紫外線で螢光を検出すると，螢光の位置はアミノ酸および糖の位置と殆んど近いか一致するが，螢光スポットの中心は，糖およびアミノ酸のスポットの中心ととわずかに上下にずれている場合が多い。したがつて，糖およびアミノ酸の一部が，それぞれの性質をほとんど失わずに螢光体を形成するものと推定される。ヒスチジンには3ケの明瞭な螢光スポットが検出され，R_f の小さい順に紫，青，黄のそれぞれ異なつた色調を呈する。全般に螢光はやや tailing が多いような傾向が認められた。アミノ酸のみ，あるいは糖のみ加熱したものでは螢光は認められないが，フルフラールの場合，アミノ酸を添加しなくても加熱によつて螢光体を生じ，R_f 0.88 付近に青白色，0.97 付近に黄褐色の螢光のスポットを与えた。またフルフラール-リジン，およびフルフラール-グリシンの場合，アミノ酸およびアミンと考えられる位置の他にさらにもう一つ R_f 0.62 付近に極めて強い青色の螢光を示すスポットを与えた (Fig. 7)。このようにフルフラール-アミノ酸の褐変液は，紫外部吸光の項でもみられたように，糖-アミノ酸の褐変液とはかなり異なつた性質を有するように思われた。

次に，燐酸の検出を行なつてみると，明らかに無機燐酸と同定される単独のスポットのみが得られ，(Fig. 6) 上述の種々の検出法によつて得た他の物質のスポットとは一致しないので，燐酸は褐変反応の生成物とは結合していないか，たとえ結合していても極めて labile な結合であつて，ペークロのような処理によつても簡単に遊離するよう

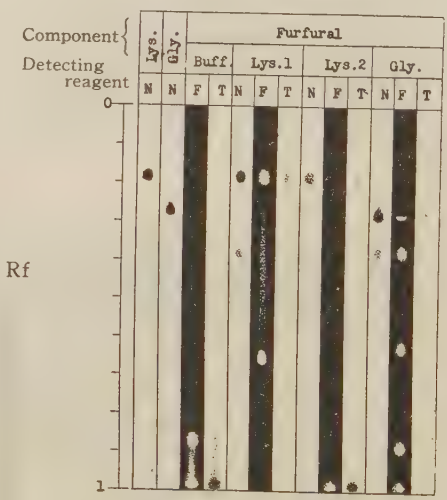


Fig. 7. Paperchromatograms of furfural after autoclaving. Furfural was dissolved in 0.1M phosphate buffer, pH 6.8, with or without the addition of amino acid, and autoclaved for one hour at 120°. Buff., insoluble brown matter formed by autoclaving (no spot was detected on supernatant); Lys. 1, supernatant; Lys. 2, insoluble brown matter; Gly., whole solution (insoluble matter was not formed).

な性質のものであろうと考えられるが，この点についてはなお検討を要する。

褐色物質は大部分原点に留るが，肉眼的に比較的着色度の小さい物質が流れるように展開するのが認められる。しかし明瞭なスポットは認められない。ただしフルフラールの試験群の場合，黄褐色の螢光を示し，かつTTCに陽性な R_f 0.97 付近のスポットは肉眼的にも淡黄褐色に認められるものであつた。

一方，dichlorophenolindophenol によつて，レダクトンの検出を試みたが，スポットが認められず，紫外部吸収スペクトルから想定したレダクトンの存在を確認できなかつた。

要　　約

1. 燐酸塩を含む糖-アミノ酸溶液の加熱による褐変反応の生成物について二，三の観察を行なつた。
2. 紫外部の最大吸収帯は糖およびアミノ酸の種類によつて異なり，268～295 mμ の範囲にみられた。
3. 糖-アミノ酸の褐変液のペーパークロマトグラフにより，おおよそ次のような点が知られた。
   i) ニンヒドリンに陽性な物質は既存のアミノ酸のみと思われた。
   ii) 螢光のスポットは，糖およびアミノ酸と同じ位置に検出された。
   iii) 褐色物質は大部分原点に留まるが，着色度の比較的小さい部分がやや展開するように思われた。
   iv) 燐酸は反応物あるいは反応生成物と直接結合していないもののようであつた。

本研究にご指導たまわつた九州大学富山哲夫教授，ならびに東京水産大学小野豊樹教授，実験に協力された佐野公博君に感謝の意を表する。

文　　献

1) 永山：本誌，**26**，1107 (1960).
2) S. M. PARTRIDGE: *Nature*, **164**, 443 (1949).
3) K. WALLENFELS: *Naturwiss.*, **37**, 491 (1950).
4) R. J. BLOCK, E. L. DURRUM, and G. ZWEIG: *Mannual of Paperchromatography and Paper Electrophoresis*. p. 240 Academic Press, (1955).
5) C. S. HANES: *Nature*, **168**, 744 (1951).
6) J. P. CROWTHER: *ibid.*, **173**, 486 (1954).
7) J. E. HODGE: *J. Agr. Food Chem.*, **1**, 933 (1953).
8) W. G. BERL, and C. E. FEAZEL: Ref. No. 18 in 7).

魚肉の褐変に関する研究—V.
グルコース-リジン溶液の褐変におよぼす燐酸その他の化合物の影響

永山文男

(1960 年 8 月 18 日受理)

STUDIES ON THE BROWNING OF FISH FLESH—V.
EFFECTS OF PHOSPHATE AND OTHER COMPOUNDS ON THE BROWNING OF GLUCOSE-LYSINE SOLUTION.

Fumio NAGAYAMA*

Effects of phosphate, pH, and various acids and salts on the browning of glucose-lysine solution were observed.

The solution colored distinctly at pH 6.5 in the presence of 0.1 M ortho phosphate by autoclaving at 115° for one hour, although there was no browning in the absence of phosphate (Fig. 1). The degree of brown coloration of the solution in 0.1 M phosphate buffer, pH 6.5, is proportional to the concentration of glucose and also correlated with the concentration of lysine (Fig. 2). The browning is exhibited by the increase of phosphate concentration (Fig. 3), and the degree of browning is able to be expressed as a function of square root of molar concentration of ortho phosphate (Table 1).

Most of acids inhibit the browning by their pH-lowering action. However, borate accelerates the reaction (Fig. 4). Sulfites inhibit the browning by their reducing action as already known, and calcium and magnesium salts also inhibit the browning completely (Table 3).

第 III 報[1]において著者は，糖-アミノ酸溶液の加熱による褐変はすでにいわれているように[2]燐酸塩によつて促進でされるものであることを報告したが，アミノ酸中もつとも褐変を誘起し易いリジンをグルコースとともに加熱する時に起る褐変反応に，燐酸がどのような影響を及ぼすか，また，燐酸の共存下の褐変に対する pH，各種の酸および塩の影響等について種々観察した結果を報告する。

実　　験

試料および方法　試料はすべて市販の特級試薬をそのまま用いた。

各試験法は特に記さない限り，グルコース，リジンは各 0.01 M，燐酸その他の添加物は各実験結果の項に示したような終濃度となしそれぞれアンプルに封入して 115° (約 10 lbs) 1 時間加圧蒸煮した後，各試験液の 430 mμ および 490 mμ の吸光を 1 cm のセルを用いてベックマン分光光度計で測定した。

結果および考察

pH の影響　pH 4.5～7.5 の間について pH と褐変度との関係をみると Fig. 1 に示すような曲線が得られる。すなわち，燐酸を含まないグルコース-リジン溶液を HCl または NaOH で pH を修正したもの

* 東京水産大学 (Tokyo Univ. Fish., Minato-ku, Tokyo, Japan).

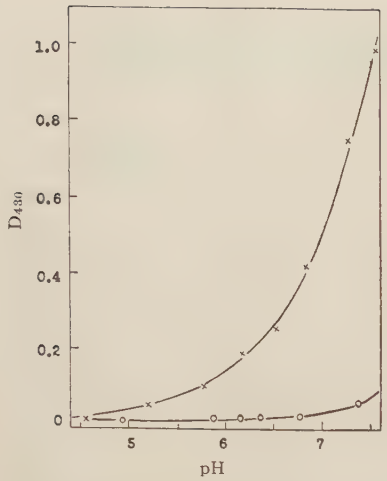


Fig. 1. Effect of pH on the browning of glucose-lysine solution in the presence or the absence of phosphate. —×—, in the presence of phosphate, 0.1M; —○—, in the absence of phosphate. The solution of glucose (0.01 M) and lysine (0.01 M) was autoclaved for one hour at 115°.

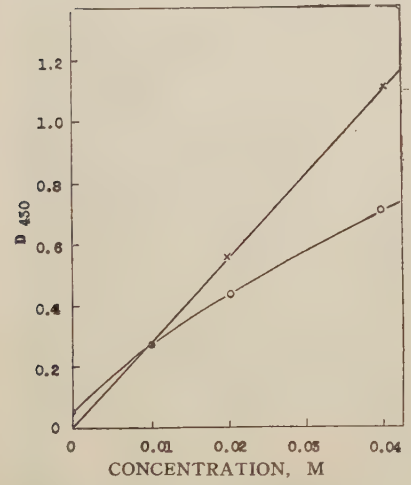


Fig. 2. Effect of concentration of glucose and lysine on browning. In the experiment with glucose (—×—), the concentration of lysine is kept constant, 0.01M; in the experiment with lysine (—○—), the concentration of glucose is kept constant, 0.01M.

は pH 7.5 以下では，115°，1時間の加熱処理による褐変は殆んど認められないのに反し，正燐酸塩 0.1M を含む溶液では，天然物の自然 pH に近い pH 6.5 付近からアルカリ側で急激に褐変度の増加がみられる。一般に既往のアミノ酸-糖系の褐変モデル実験では，pH 7.0 を境としてアルカリ側では褐変が顕著であり，酸性側では褐変が起り難いとされているが[3]，本実験の結果は，燐酸が共存する場合には 7.0 より低い pH においても褐変が顕著に起る可能性のあることを示すものである。しかし pH が 6.0 以下になると褐変が起り難いことは，既に知られているような酸性 pH による褐変抑制効果に基くものと考えられる。

グルコースおよびリジンの濃度の影響　pH 6.5 の 0.1 M 燐酸塩緩衝液中に，まずリジンを 0.01M にし，これにグルコースを 0，0.01M，0.02M および 0.04M になるように加えた試験液を加熱すると Fig. 2 にみられるように，褐変度はグルコース濃に直線的に比例して増加する。一方，グルコース濃度を 0.01M とし，リジンの濃度を変えてみると，褐変度と濃度の関係はグルコースの場合ほど明瞭な直線的相関を示さないが，やはりリジンの濃度の増加に伴なつて褐変度も増大する。

このことから，褐変度はグルコースの濃度に甚しく支配されることは明らかであるが，同時に，リジンの濃度も褐変度を左右する重要な因子となることが認められる。

燐酸の影響　アミノ酸の存在の有無にかかわらず燐酸塩が還元糖の褐変を促進することはすでにいくつかの報告にみられ[2]，また著者も第Ⅲ報[1]に述べたが本実験では，pH 6.5 における正燐酸の濃度と褐変度との関係を

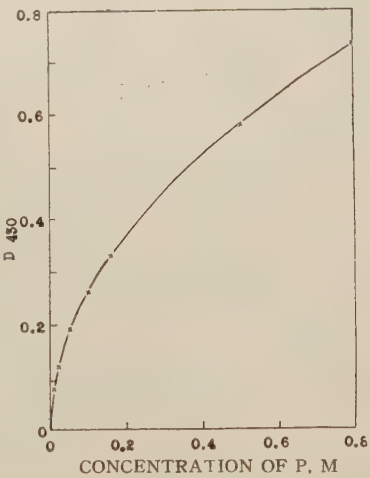


Fig. 3. Effect of concentration of inorganic ortho phosphate on the browning of glucose-lysine system at pH 6.5.

みた。その結果は Fig. 3 に示すように，正燐酸の濃度の増加に伴ない褐変度が増大することが明らかである。そこで正燐酸の濃度 (M) の平方根と吸光度について，最小二乗法によりその相関関係を求めると Table 1 の下に記すような関係式が求められる．このように正燐酸が褐変度の増大をもたらすのは，前報[4]でも述

Table 1. Effect of concentration of phosphate on browning of glucose-lysine system at pH 6.5.

Conc. of P, M	D_{430}	D_{490}
0.01	0.075	0.032
0.02	0.123	0.065
0.05	0.190	0.085
0.10	0.257	0.135
0.16	0.332	0.150
0.50	0.578	0.270
0.80	0.732	0.332

$D_{430} = 0.816 \cdot (\text{Conc. of P, M})^{1/2} + 0.002$

$D_{490} = 0.369 \cdot (\text{Conc. of P, M})^{1/2} + 0.006$

Table 2. Effect of phosphates on the browning of glucose-lysine system.

Phosphate	pH	D_{430}	D_{490}
0.1 M ortho-phosphate	6.09	0.139	0.064
	6.17	0.196	0.094
	6.50	0.257	0.135
	6.78	0.305	0.145
	6.85	0.410	0.200
0.1 M meta-phosphate	6.48	0.226	0.101
	6.57	0.273	0.141
0.1 M pyro-phosphate	6.19	0.083	0.040
	6.37	0.092	0.045
None	6.75	0.015	0

べたように，燐酸が，アミノ酸，糖，あるいは褐色物質の何れとも直接結合していないようにみられる点からも褐変反応系に直接入るのではなく，単なる液体触媒としての作用によるものであろうと思われるが，さらに詳しく検討したい。

またメタ燐酸は殆んど褐変促進効果を示さないが，ピロ酸おは同M濃度の正燐酸と殆んど同程度の褐変度を与えた (Table 2)。ピロ燐酸の褐変促進作用は，直接ピロ燐酸によるものか，加熱によつてピロ燐酸から生じた正燐酸の作用に基くものかは明らかでない。

一般に魚肉中には 0.03 M 程度の無機正燐酸が含まれ，また加熱によつてさらにその量が増加するものであるから，魚肉の褐変においては，前述の糖，アミノ酸の含量，pH 等の他に，無機正燐酸の含量が一つの重要な因子であると考えなければならない。

各種の酸および塩の影響　pH 6.8 または pH 6.5 の 0.1 M 燐酸塩を含むグルコース-リジン溶液に各種の酸および塩を添加して加熱し，それぞれの吸光度を測定した結果を Table 3 に示した。NaCl, KCl は 0.1 M で微かに褐変を抑制するようにみえるが，その効果は顕著なものでない。$CaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$ を添加すると何れも白色の沈殿を生じ，同時に pH 値の低下が起り，溶液は全く褐変しない。チオ硫酸ソーダもやや褐変を抑制するが，0.01 M でも亜硫酸塩ほど効果的でない。亜硫酸ソーダ，酸性亜硫酸ソーダ，およびヒドロ亜硫酸ソーダは何れも 0.01 M で極めて褐変抑制効果が大きい。亜硫酸塩を添加した場合 pH 値の変化は殆んど起らないから，その効果は既に報告されているように[2] 還元作用に基くものと考えられる。

ギ酸，酢酸，乳酸，酒石酸，クエン酸は 0.001 M では褐変抑制効が小さいが 0.01 M ではその効果がかなり明瞭になり，0.03 M では抑制効果が甚だ顕著である。上記 5 種の酸のうちではクエン酸が最も効果的であり，酒石酸，乳酸，ギ酸，酢酸の順に抑制効果が小さくなる。この傾向は pH 値の変化と一致するもののようで，したがつてこれらの酸による褐変の抑制は主として pH の変化にもとずくものと考えられる。

一方，ホウ酸を添加すると褐変度が著しく増大した。そこで燐酸の存在なしにホウ酸の影響を観察すると Fig. 4 に示したような結果が得られた。すなわち，pH 6.5 において，ホウ酸の褐変促進作用は 0.03 M 以下では燐酸より小さいが，それ以上の濃度では燐酸より著しい褐変促進作用がみられた。しかし，0.3 M 以上では濃度を増しても褐変度は増大せず，かえつて促進効果は減少するようにみえる。ホウ酸の濃度 0.03 M ～0.3 M の間の実験値は二次函数の曲線に近い値を示し，その近似式は

$$D_{430} = -12.45C^2 + 7.24C - 0.077$$

で表わし得る。(ただし C はホウ酸の M 濃度)．ホウ酸のこのような褐変促進作用については，燐酸の場合と同様に 1 つの触媒作用によるものと考えられるが，あらためて検討を要する。

次に，前にあげた種々の酸のソーダ塩またはアンモニア塩の影響をみると，酸の場合と同様に pH 値に従つた結果が現われるようで，特に塩中のアンモニアが直接褐変に関与するとは考えられなかつた。

要　　約

1. グルコース-リジン溶液の加熱による褐変に対する pH，グルコース濃度，リジン濃度，正燐酸濃度および種々の酸および塩の影響について観察した。

2. 正燐酸が共存すると pH 6.5 付近からアルカリ側で顕著な褐変がみられる。

Table 3. Effects of various acids and salts on the browning of glucose-lysine system in phosphate buffer. Solution of glucose (0.01 M) and lysine (0.01 M) in 0.1 M phosphate buffer was autoclaved at 115° for one hour with the addition of various compounds.

Additive	I				II			
	Conc., M	pH	D_{430}	D_{490}	Conc., M	pH	D_{430}	D_{490}
None	—	6.78	0.305	0.145	—	6.52	0.257	0.135
NaCl	0.1	6.76	0.279	0.124	0.1	6.43	0.225	0.138
KCl	0.1	6.73	0.267	0.127	0.1	6.43	0.225	0.125
$CaCl_2$	0.1	3.44	0	0	0.1	2.84	0	0
$MgCl_2$	0.1	5.75	0	0	0.1	4.93	0	0
$MgSO_4$	0.1	6.04	0	0	0.1	5.00	0	0
$Na_2S_2O_3$	0.01	6.82	0.288	0.112	0.01	6.47	0.213	0.093
〃	0.001	6.86	0.289	0.125	0.001	6.49	0.225	0.095
$NaHSO_3$	0.01	6.74	0.036	0.015	0.01	6.42	0.031	0.007
〃	0.001	6.84	0.297	0.140	0.001	6.49	0.211	0.089
Na_2SO_3	0.01	6.90	0.062	0.030	0.01	6.55	0.040	0.020
〃	0.001	6.85	0.305	0.140	0.001	6.53	0.217	0.090
$Na_2S_2O_4$	0.01	6.66	0	0	0.01	6.34	0.025	0.007
〃	0.001	6.80	0.219	0.090	0.001	6.46	0.175	0.072
Formic acid	0.01	6.70	0.250	0.121	0.03	5.78	0.105	0.052
〃	0.001	6.86	0.269	0.133	0.01	6.34	0.177	0.075
Acetic acid	0.01	6.64	0.292	0.118	0.03	5.74	0.111	0.061
〃	0.001	6.81	0.329	0.132	0.01	6.25	0.203	0.086
Lactic acid	0.01	6.62	0.255	0.109	0.03	5.52	0.073	0.030
〃	0.001	6.84	0.296	0.121	0.01	6.30	0.170	0.080
Tartaric acid	0.01	6.48	0.188	0.083	0.03	3.80	0	0
〃	0.001	6.79	0.255	0.114	0.01	6.07	0.150	0.061
Citric acid	0.01	6.26	0.132	0.066	0.03	3.84	0.020	0.010
〃	0.001	6.80	0.273	0.119	0.01	5.80	0.090	0.040
Boric acid	0.01	6.80	0.550	0.271	0.03	6.43	0.590	0.290
〃	0.001	6.84	0.389	0.172				
Sodium acetate	0.01	6.80	0.315	0.126	0.01	6.52	0.250	0.118
Sodium lactate	0.01	6.84	0.355	0.173	0.01	6.49	0.250	0.109
Sodium citrate	0.01	6.85	0.271	0.099	0.01	6.52	0.195	0.095
Sodium borate	0.01	7.16	0.979	0.481	0.01	6.80	0.830	0.452
Sodium succinate	0.01	6.83	0.300	0.126	0.01	6.44	0.260	0.125
Ammonium formate	0.01	6.86	0.349	0.175	0.01	6.50	0.280	0.128
Ammonium tartarate	0.01	6.81	0.340	0.150	0.01	6.45	0.276	0.125

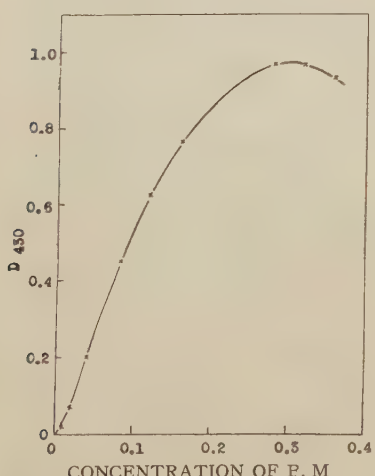


Fig. 4. Effect of concentration of borate on the browning of glucose-lysine system at pH 6.5.

3. グルコース濃度と褐変度とは直線的に比例するが，リジンの濃度も褐変度を左右する一つの因子である。

4. 褐変度は正燐酸の濃度の平方根に比例する。

5. 亜硫酸塩は正燐酸両存下の褐変を抑制する。また一般に酸および塩類は，主としてその pH 値の変化にもとずく効果を与える。

6. ホウ酸は甚しく褐変を促進させる。

本研究にご指導賜つた九州大学富山哲夫教授，東京水大学小野豊樹教授に感謝の意を表する。

文　　献

1) 永山：本誌，**26**，1107 (1960).

2) J. E. HODGE: *J. Agr. Food Chem.*, **1**, 938 (1953).

3) C. O. WILLITS, J. C. UNDERWOOD, H. G. LENTO, Jr., and C. RICCIUTI: *Food Res.*, **23**, 61 (1958).

4) 永山：本誌，**27**，28 (1961).

マグロ・ヘモグロビンおよびミオグロビンの色素部分について*

山口雄三・松浦文雄

(1960年8月31日受理)

ON THE PROSTHETIC GROUP OF HEMOGLOBIN AND MYOGLOBIN OF TUNA

Yuzo Yamaguchi and Fumio Matsuura**

To identify the prosthetic group of hemoglobin (Hb) and myoglobin (Mb) of fish, some properties of hemin and porphyrinesters prepared from Hb and Mb of yellowfin tuna, *Neothunnus macropterus*, were compared with those obtained from horse Hb.

There were no apparent differences in the crystal form among the three hemins, among the three protoporphyrindimethylesters and among the three mesoporphyrindimethylesters. The iron content of these hemin preparations was almost same, and agreed fairly well with the theoretical value. No melting-point depression was observed in the mixed samples of protoporphyrindimethylesters and so was the case with mesoporphyrindimethylesters. Absorption spectra of some derivatives of the three pigments were in a good agreement with one another both in the near ultra-violet and visible regions and in the infrared region (Figs. 1 and 2).

From these results it may be concluded that the prosthetic group of Hb and Mb of tuna (and perhaps of fish in general) is the same as both pigments of mammals, the iron complex of protoporphyrin IX.

古く Fischer[1] は数種哺乳動物の血液色素 hemoglobin (Hb と略記) の補欠分子族たる色素部分が protoporphyrin IX の Fe complex である protoheme なることを明かにし，数年後 Schönheimer[2] は同じく哺乳動物 (牛，犬) の筋肉色素 myoglobin (Mb) から hemin を調製し，このものが Hb から得られるものと全く同一物なることを立証した。その後分類学上遙に下等な無脊椎動物，例えば *Glycera*[3]，*Chironomus*[4] 等の Hb (一名 erythrocruorin) についても同じ protoheme を有することが知られるに至つた。かくして現今およそ動物種の如何を問わず Hb, Mb と称せられるものはすべてその色素部分として IX 型の protoheme を有すると考えられている。しかしその主な論拠は諸種動物の Hb, Mb の分光学的性質特に可視部のそれが相似ているというに止まる。魚類の場合について考えて見ると Hb は哺乳類のものに極く類似した可視部吸収スペクトルを示す。一方 Mb においては哺乳類の Mb と距るかなり特異的な性質を示すがこれとてもむしろ Hb に近い。したがつてこの限りでは魚類の両色素蛋白ともに哺乳類と同じ protoheme を有すると考えて良さそうである。然し，上記の理由のみをもつてかく断定するには多少の疑念なしとしない。この点とくに目新しい興味を惹くというわけではないが比較生化学上はもとより，これら両色素蛋白の関係する応用上の諸問題を究明するための基礎資料としてもこの点を明確にしておく必要があると考えた。

さて protoheme の同定法しては普通 hemin より誘導される protoporphyrin，もしくは更に安定な mesoporphyrin の methyl- または ethylester についての融点および吸収スペクトルの測定がその主なものである[1,2,5]。著者らはこれにならいキハダマグロの Hb および Mb より色素部分を単離し対照としてウマ Hb より調製した hemin を用いて，これら三者および各誘導体について諸種の性質を比較したので報告す

---

* 本報告は昭和 35 年 4 月 4 日，日本水産学会年会において講演した。

** 東大農学部水産化学研究室 (Lab. Fish. Chem., Fac. of Agr., The Univ. of Tokyo).

る。

実 験 の 部

1. 色素試料　マグロ Hb は漁獲後数日間氷蔵したキハダマグロから採取した血液を用いたためすでに溶血してをり，やむをえず硫酸アンモニウム 40～60% 飽和により沈澱する劃分を集め，流水透析したものを試料とした。マグロ Mb は新鮮なキハダマグロの血合肉より松浦ら[6]の方法によつてその結晶を調製し，水に溶解後流水透析して用いた。ウマ Hb は生理的食塩水で洗滌した血球を溶血，遠心分離によつてストローマを除去して得られる粗 Hb 溶液を用いた。

2. hemin 結晶調製　上記試料よりの hemin 結晶の調製は LABBE ら[7]の acetone-$SrCl_2$ 法に従い，また再結晶化は WILLSTATTER[8] の方法にほぼ準拠して行つた。

3. protoporphyrin- および mesoporphyrindimethylester 結晶の調製　上記 Hb および Mb またはそれらの hemin より GRINSTEIN[9] の方法にしたがい，protoporphyrindimethylester の結晶を調製した。mesoporphyrindimethylester は同じく GRINSTEIN ら[10]の方法によつて前記 ester から誘導した。両種 ester はすべて再結晶化後分析に供した。

結 果 と 考 察

1. 結晶形　マグロ Hb, Mb およびウマ Hb より得られた hemin はいずれも TEICHMANN's crystal[11] と呼ばれる菱形板状の結晶形を示した。protoporphyrin- および mesoporphyrindimethylester の結晶形も三者色素間に差異をみず，前者は星状に集合した三稜形針状を，後者は針状を呈した。

2. hemin の鉄含量　上記の三者色素各 hemin の鉄含量を *o*-phenanthroline 法[12]により定量したところマグロ Hb の hemin (再結晶せず) 8.38%，マグロ Mb の hemin 8.61%，ウマ Hb の hemin 8.65% のごとくいずれも鉄含量の理論値 8.57% に近い値を示した。

3. 融点測定および混融試験　マグロ Hb, Mb およびウマ Hb より調製した各 protoporphyrindimethylester の融点はそれぞれ 228°C, 228.5°C, および 228°C であり相互混融の結果はいずれも融点降下を認め得なかつた。mesoporphyrindimethylester ではいずれも 215～216°C で相互混融による融点降下は認められなかつた。

4. 近紫外部および可視部吸収スペクトル　前記の各 hemin から LEMBERG ら[13] あるいは DRABKIN[14] の方法にしたがつて下記のごとき種々の誘導体に導き，BECKMAN DU 型 spectrophotometer を用いて近紫外部および可視部の吸収スペクトルを測定した。

A. pyridine hemochromogen, 同 hemichromogen および cyanide pyridine hemichromogen　いずれの誘導体の場合もマグロ Hb, Mb およびウマ Hb の hemin より導かれた三者は極大極小の波長ならびに分子吸光係数ともに事実上一致し，また文献値[13,15-17] ともよく一致した。

B. ammonia hemochromogen および同 hemichromogen　三者の hemin をそれぞれ 0.1N NH_4OH に溶解して hemichromogen とし，また還元して hemochromogen に導き測定したが，極大極小の波長，分子吸光係数ともに三者色素間乃至文献記載値[18,19] 間に本質的な差異を認めなかつた。

C. alkali および acid hematin　alkali hematin において 10% NaOH 水溶液を溶媒とした場合，580 mμ の極大の分子吸光係数は 6.5～6.9 で三者相互間ではよく一致した。ただしこれを文献値 (10.5)[13] と比較するとやや低いが，この理由は不明である。borate buffer (0.1 M, pH 10.0) を用いた場合には三者いずれの場合にも極大は 610 mμ に移動した。

acetone-氷醋酸 (20 : 1) を溶媒としたときの acid hematin の吸収スペクトルは三者間に事実上差異はなく，定性的には文献記載[7,14] ともよく一致した (hemin はこの溶媒に溶け難いので分子吸光係数は求め得なかつた)。

D. protoporphyrindimethylester　三者色素より調製した本物質を chloroform に溶解してその吸収

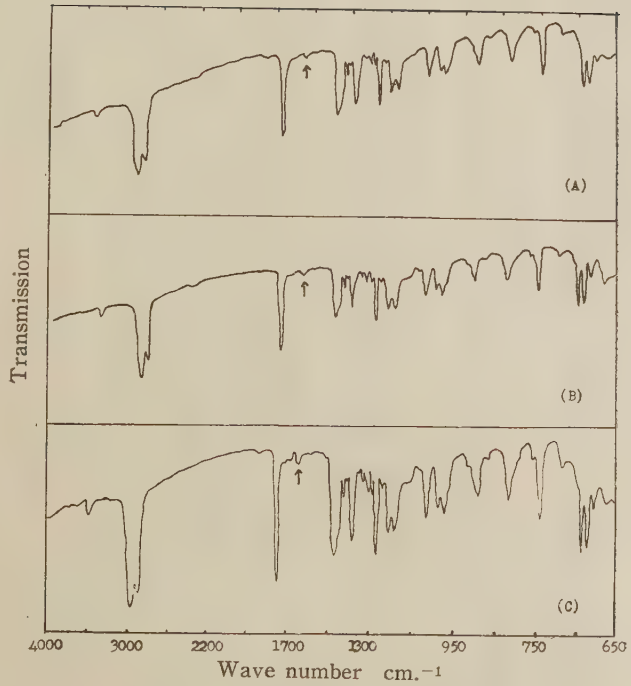


Fig. 1. Infrared spectra of hemins from tuna Hb (A), from tuna Mb (B), and from horse Hb (C), measured as the mulls in Nujol with rock-salt optics. Arrows indicate the absorption band which seems to be due to the vinyl group.

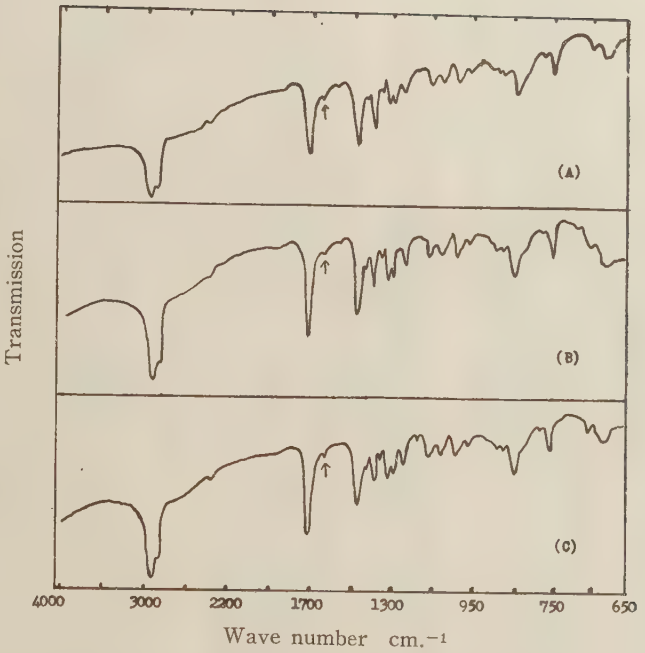


Fig. 2. Infrared spectra of protoporphyrindimethylesters derived from tuna Hb hemin (A), from tuna Mb hemin (B), and from horse Hb hemin (C).
Refer to Fig. 1 for details.

スペクトルを測定したところ，極大極小の波長および分子吸光係数ともに三者間に差異を認めず，また文献[1]とも全く一致した。

E. mesoporphyrindimethylester　前記 ester と同様にして methanol を溶媒としたときの吸収スペクトルを測定したところ同じく差異は認めず文献[11]ともほぼ一致した。

5. 赤外部吸収スペクトル　三者 hemin および protoporphyrindimethylester の結晶を Nujol 法により島津赤外分光光度計を用いて赤外部吸収スペクトルを測定したところ三者色素間には全く差異を認めなかつた (Fig. 1 および 2)。これらの結果を文献[20]と比較するもよく一致した。ただし従来は認められないとされていた vinyl 基に基くと考えられる吸収を 1620～1650 cm^{-1} の領域に認め得た。

以上のごとくマグロ Hb, Mb およびウマ Hb より色素部分を分離し諸種の誘導体を作つてその各種の性質を比較した結果，結晶形，鉄含量，融点および近紫外部から赤外部に至る吸収スペクトルが相互によく一致することから三者は同一物質であることが明白である。従来魚類の Hb および Mb が恐らく protoporphyrin IX の鉄錯化合物を補欠分子族とするであろうことは漠然と推定されて来たところであるが，本研究によつてその具体的根拠が与えられたものと信ずる。

終りに臨み，赤外部吸収スペクトルにつき御教示を頂いた東京教育大学中西香爾教授に深甚なる謝意を表する。

文　献

1) Fischer, H., *et al.*: *Z. physiol. Chem.* **139**, 108 (1924).
2) Schönheimer, R.: *Ibid.* **180**, 144 (1929).
3) Salomon, K.: *J. Gen. Physiol.* **24**, 367 (1941).
4) Kirrmann, A.: *Bull. Soc. Chem. Biol.* **12**, 1146 (1930).
5) Stern, K. G.: *J. Biol. Chem.* **112**, 661 (1935).
6) 松浦文雄・橋本周久: 本誌 **20**, 946 (1955).
7) Labbe, R. E.,*et al.*: *Biochem. Biophys. Acta*, **26**, 437 (1957).
8) Willstatter, R.: *Ann. Chem.* **373**, 232 (1910).
9) Grinstein, M.: *J. Biol. Chem.* **167**, 515 (1947).
10) Grinstein, M., *et al.*: *Ibid.* **147**, 671 (1943).
11) Fischer, H., *et al.*: "Die Chemie des Pyrrols", Akadem. Verlagsgesellschaft, Leipzig (1937), Bd. II, 371.
12) Drabkin, D. L.: *J. Biol. Chem.* **140**, 387 (1941).
13) Lemberg, R., *et al.*: "Hematin Compounds and Bile Pigments", Intersci. Publ., New York (1949), p. 173.
14) Drabkin, D. L.: *J. Biol. Chem.* **142**, 855 (1942).
15) Barron, E. S. G.: *Ibid.* **121**, 285 (1937).
16) Paul, K.-G., *et al.*: *Acta Chem. Scand.* **7**, 1284 (1953).
17) 菊地吾郎: "標準生化学実験法", 文光堂, 東京 (1953), p. 120.
18) von Zeynek, R.: *Z. physiol. Chem.* **25**, 492 (1898).
19) Keilin, D.: *Proc. Roy. Soc.* (*London*) **B 100**, 129 (1926).
20) Falks, J. E., *et al.*: *Austral. J. Sci. Res.* **A 4**, 579 (1951).

魚肉腐敗中の揮発性脂肪酸のガスクロマトグラフィーによる分離・定量

宮 原 昭 二 郎

(1960 年 8 月 31 日受理)

GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHIC SEPARATION AND DETERMINATION OF VOLATILE FATTY ACIDS IN FISH MEAT DURING SPOILAGE

Shojiro MIYAHARA*

In the process of spoilage of fish meat or its food products, it is known that the volatile fatty acids increase in amount with the progress of spoilage, and it is supposed that the composition of the acids may also be altered.

The author devised a easy method of separating and estimating esters of the acids by converting the acids into methyl esters first, and then by using gas-liquid chromatography with PEG-600 as stationary liquid phase and hydrogen as carrier gas at the temperature of 60°C.

With this method, the presence of volatile acids such as formic, acetic, propionic, n-butyric and iso-butyric acid was confirmed in the samples of different grade of quality, including mackerel, tuna and fish sausage.

During esterification process, it was disclosed that comparatively little loss observed in the amount of methylmercaptan, which existed with volatile acids in the distilate from spoiled fish sample. In addition, no ethylmercaptan was found in these samples.

緒 言

魚肉あるいは魚肉製品はその鮮度が低下するにつれて揮発性脂肪酸の発生が多くなり，またその組成も変化する[1)-5)]ことが知られている。

筆者はポリエチレングリコール-600 を固定相液体とする気相一液相クロマトグラフ法(ガスクロマトグラフィー）によつて，揮発性脂肪酸メチルエステルを比較的容易に定性・定量できることがわかつたので，二，三の魚肉および魚肉製品の腐敗過程中に生成する揮発性脂肪酸をメチルエステル化してその量変化をしらべた。その結果，腐敗によるこれら脂肪酸の増加組成の変化には一定の関係はなく，したがつてこの現象からは一つの鮮度判定を行うことは今のところ困難である。

脂肪酸や脂肪酸エステルのガスクロマトグラフィーによる分離については多くの研究があるが，中でも揮発性脂肪酸のエステルの分離については，用いられた固定相液体は今までにパラフィン[6)]，アピエゾン M[7)]，シリコン DC 550[8)]，ベンジルジフェニル[7)]，ジオクチルフタレート[7),9)]，ジノニルフタレート[10)]などが報告されており**，またジエチレングリコールアジペートポリエステル[11)]が水分を含む揮発性脂肪酸の分離・精製に用いられている。ポリエチレングリコール (P. E. G.) を揮発性脂肪酸やそのエステルの分離に用いた例は見当らないが，筆者は P. E. G.-600 が低級脂肪酸メチルエステルの分離にきわめて有効であることを見出した。またメルカプタン類や硫化物類の分離にはトリクレジルホスフェート[12)13)]，トリアコンタン[14)]，オルトおよびパラベンジルジフェニル[14)]，5% のジフェニルアミンを含むジオクチルフタレート[15)]を用いた例があるが，P. E. G.-600 によつても同じように硫化水素，メチルメルカプタン，エチルメルカプタンは脂肪

* 長崎大学水産学部 (Fac. Fish., Nagasaki Univ., Sasebo, Japan).

** 他に T. Johns: Beckman Gas Chromatography Manual (1959) によればベルジルエーテル，ジブチルメレアートが推奨されている。

酸メチルエステル類から分離しうることがわかつた。

装置・試薬

ガスクロマトグラフ装置は柳本製 GCG-200 型を用いた。カラムは 4mm×2m のもの，固定相液体（充塡剤）は P.E.G.-600*，キャリヤーガスは水素を用いた。実験の際の測定条件は特記しないかぎり，ブリッジ電流 85mA，感度 64mV（フルスケール），カラム温度 60°C，キャリヤーガス流速 48ml/分 であつた。標準物質としてのメチルエステル類については，市販特級の脂肪酸類から常法によつておのおのメチルエステルを合成し，蒸溜によつて精製したものを用いた。

メチルメルカプタンは市販 *s*-メチルイソチオ尿素硫酸塩から苛性ソーダによつて発生させ[16]，ガスクロマトグラフ用気体試料採取管（内容 1ml）に採取したものを用いた。エチルメルカプタンは KLASON の法[17]によつて合成したものを用いた。

実験方法・結果および考察

1. 揮発性脂肪酸のメチルエステル類およびメルカプタン類のガスクロマトグラフ分離曲線・検量線

ギ酸メチル，酢酸メチル，プロピオン酸メチル，正酪酸メチル，イソ酪酸メチル各 10μl およびメタノール 20μl をとり，前記条件でガスクロマトグラフィーにより分離を行つた結果 Fig. 1 に示すような分離曲線が得られた。なおこれらメチルエステル 1～10μl をメタノールとともにとり，分離したクロマトグラムの波高を測定した結果，波高**と採取量はメタノール量に関係なく非常によく比例し，Fig. 2 のような原点を通る検量線を得た。

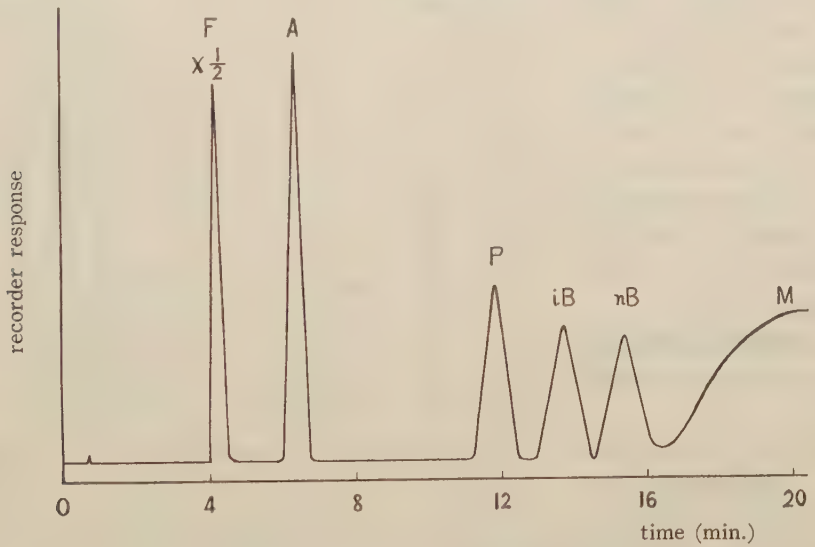


Fig. 1. Separation of methyl esters of volatile fatty acids from C_1 to C_4 in methanol on a 2m column of PEG-600 at 60°C. Carrier gas: H_2 gas.
Flow rate: 48ml/min. Peak identification and sample: (F) methyl formate 10μl, (A) methyl acetate 10μl, (P) methyl propionate 10μl, (iB) methyl iso-butyrate 10μl, (nB) methyl *n*-butyrate 10μl, (M) methanol 20μl.

---

* 市販の P. E. G.-600（カラム充塡剤としてつくつてあるもの）を水素ガス気流下に 80°C で1時間乾燥させたもの。

** ピークの形が左右対称であり，ピーク高によく比例するので面積法によらずピーク高法によつた。

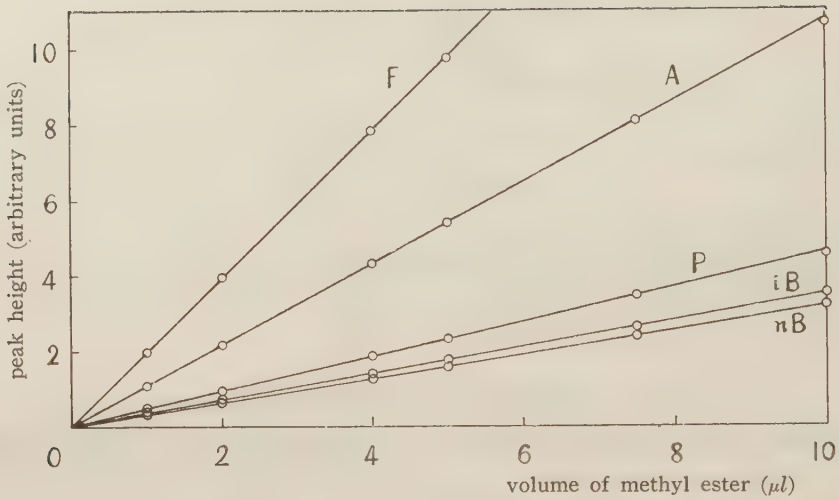


Fig. 2. Calibration curve for the estimation of methyl esters of volatile fatty acids C_1 to C_4. Conditions and identification as in Fig. 1.

また，硫化水素ガス 1ml およびメチルメルカプタンガス 1ml（ともに室温で1気圧，少量の空気を含む），エチルメルカプタン 5μl およびギ酸メチル 5μl の混合物について*の分離曲線は Fig. 3 のとおりであつた。純メチルメルカプタンガスの一定量の採取が困難なため，その検量線の作成は行わなかつたが，相対的な定量は波高の測定により可能である。絶対的定量法については現在検討中である。

2. 魚肉よりの揮発性脂肪酸の採取およびメチルエステル化（試料液の調整）

供試材料はサバ肉，マグロ肉，市販魚肉ソーセージ2種の計4種類であつて，これらの新鮮材料を1塊 100g 宛に切つておき，室温（最高 28°C，最低 16°C）に放置（魚肉ソーセージはケーシングを取除いて放置）した。20～240時間後にその1塊をとり出し，約 100 ml の水を加えながらすりつぶして蒸溜フラスコに入れ，硫酸マグネシウム結晶 50g を加え，次に濃硫酸を加えて混液の pH を1以下となし，水蒸気蒸溜を 10 分間行う。溜出液は 0.1N 苛性ソーダ約 10ml にとり，アルカリ性のまま湯浴上で濃縮

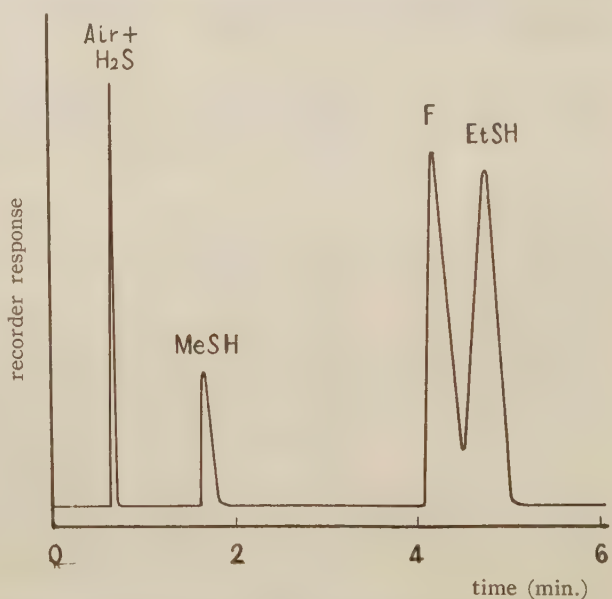


Fig. 3. Separation of mixture of hydrogen sulfide, methyl mercaptan, ethyl mercaptan and methyl formate. Conditions as in Fig. 1.
Sample: hydrogen sulfide and methyl mercaptan, each 1ml (but including small amount of air) at 1 atm.; ethyl mercaptan and methyl formate, each 5μl.

* 気体試料注入口と液体試料注入口を同時に開いて試料を注入する。

乾固し，無水メタノール約 5ml を加え，濃硫酸・無水メタノール混合液 (1 : 50) で酸性となし，更に濃硫酸 0.5ml を加えて加熱しメチルエステル化を行う。のち 100°C 以下で蒸溜される部分をとり，メタノールで 10ml に定容しガスクロマトグラフ用試料液とした。

この操作によつて魚肉中のメルカプタンは脂肪酸と同様にアルカリによつて一度メルカプチドとなり，濃縮され，酸によつて再びメルカプタンとなる。メチルメルカプタンを含むメタノール溶液 10ml と，同液を上記と同様に水蒸気蒸溜，アルカリ添加，濃縮，メタノールおよび濃硫酸添加，加熱，蒸溜し 10ml に定容したメタノール液とについて 1 のようにメルカプタンを分離し，その波高を測定した結果 Table 1 に示すように，揮発酸の採取およびメチルエステル化の際メルカプタンは逸散しないことがわかつた。

Table 1. Recovery of methyl mercaptan by sampling and esterification. Conditions of gas chromatography are same as in Fig. 1.

Gas chromatographic peak height of methyl mercaptan		recovery
in original methanol solution	in treated solution	
3.5 cm	3.4 cm	97.1%
7.0 〃	6.9 〃	98.5 〃

3. 試料液のガスクロマトグラフィー

2 の試料液 0.1ml をとり前記条件でガスクロマトグラフィーを行つた結果，例えばサバ肉（放置時間 24 時間，腐敗）については Fig. 4 の分離曲線が得られた。その他のものについては Table 2 のような結果を得た。

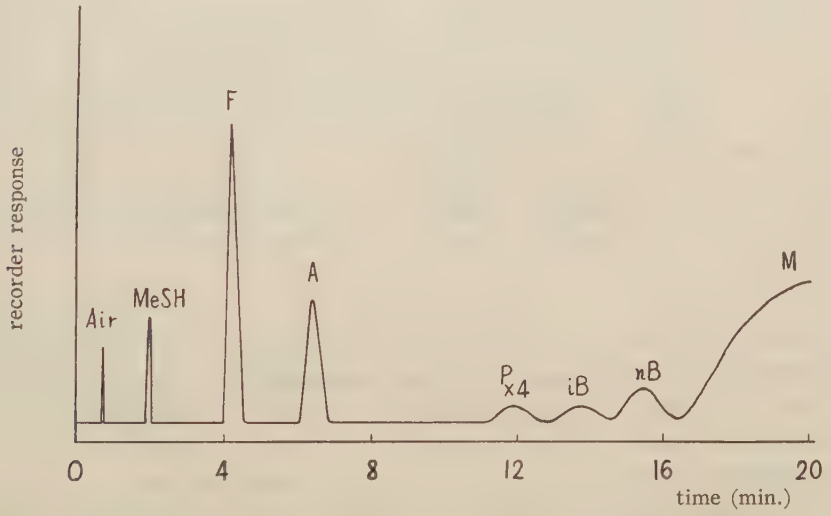


Fig. 4. Separation of methyl esters of volatile acids and methyl mercaptan obtained from spoiled mackerel meat by gas chromatography. Sensitivity is multiplied by 8 into Fig. 1. Other conditions and peak identification as in Fig. 1. Sample 0.1 ml is obtained from 1g spoiled mackerel meat.

Table 2 の値について，赤松氏の実験[5]の試料中にはプロピオン酸は存在しなかつたが，この場合は明らかに存在している。また他の酸についてはやや大きい値を示している。放置時間の区切り方が大きすぎたが一般にギ酸，醋酸，プロピオン酸，イソ酪酸，正酪酸およびメチルメルカプタンは魚肉の放置時間とともに増加し（エチルメルカプタンは存在しない），その増加量は各試料によつて異つており，増加量または増加の割合から魚肉または魚肉ソーセージの鮮度を規定することは今のところ困難と思われる。硫化水素については，さきに Fig. 3 に示したように空気とは分離しないが，各試料液の第一の波高（いわゆるエアピーク）

Table 2. The amount of methyl esters of volatile fatty acids and mercaptans in the fish meat and the fish sausage.

mercaptans: the relative amount
esters: upper····methyl ester μl in 100g, middle····converted amount to acid mg, lower····% in the whole acid.

Sample	Tuna meat			Fish sausage A			Fish sausage B			Mackerel meat	
time in hours	0	20[a)]	44[b)]	0	72[a)]	240[b)]	0	72[a)]	240[b)]	0	24[b,c)]
methyl mercaptan	0	1.0	2.6	1.0	2.2	3.8	1.0	2.2	4.1	trace	1.0
ethyl mercaptan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
methyl formate	3.4 2.5 40	6.4 4.7 24	26.8 20.0 33	4.7 3.5 12	8.8 6.5 13	24.4 18.3 22	5.3 4.0 36	9.2 6.8 26	48.6 36.3 45	4.0 3.0 29	48.0 36.0 34
methyl acetate	2.7 2.0 32	16.0 12.0 61	23.5 18.0 30	14.9 11.2 37	26.6 20.1 41	52.4 40.0 48	8.2 6.2 55	17.4 13.1 50	34.5 26.4 33	6.1 4.9 48	40.0 30.4 29
methyl propionate	0	1.0 0.8 4	2.3 1.7 2	trace	1.3 1.0 2	1.8 1.3 2	trace	1.1 0.8 3	1.8 1.3 2	trace	2.6 2.0 2
methyl iso-butyrate	0.7 0.5 8	1.0 0.8 4	2.1 1.6 2	0.7 0.5 2	1.7 1.3 3	2.0 1.6 2	0.7 0.5 5	1.6 1.2 5	2.1 1.6 2	1.1 0.9 9	14.0 10.7 10
methyl *n*-butyrate	1.5 1.2 19	1.9 1.5 7	26.0 20.0 33	18.2 14.0 49	25.3 19.5 40	29.1 22.4 27	0.6 0.4 4	5.3 4.1 16	19.0 14.7 19	1.8 1.4 14	35.0 26.8 26

a) half spoiled, b) spoiled, c) from Fig. 4.

は皆同じであつたので，これは一応硫化水素ではないとしておく。しかし腐敗肉からは当然硫化水素は発生されるものと思われるから，硫化水素の分離・定量についても今後検討を行い度い。

要　　約

1. C_1～C_4 の脂肪酸（飽和）のメチルエステル類およびメチル，エチルメルカプタンの混合物の分離・定量法について研究し，そのメタノール溶液を P. E. G.-600 を固定相液体とするガスクロマトグラフィーにより分離し，メチルエステル類についてはそれを定量することができた。なお硫化水素ガスは P. E. G.-600 では空気と分離されなかつた。

2. 1. の方法を魚肉および魚肉ソーセージに応用し，供試料材中の揮発性脂肪酸をメチルエステルに変えて定量した。その結果腐敗の進行につれて脂肪酸，（ギ酸，酢酸，プロピオン酸，正酪酸，イソ酪酸）が増加すること，その増加の割合や組成の変化に一定の関係はないことがわかつた。

3. 供試材料中のメルカプタンは揮発性脂肪酸とともに採取され，脂肪酸のメチルエステル化の際にも逸散することなく試料液中に存在すること，腐敗の進行につれてメチルメルカプタンは増加すること，魚肉やその腐敗生産物中にはエチルメルカプタンは存在しないことがわかつた。

文　　献

1) Hillig, F. and Clark, E. P.: "Advance in Food Research II", p. 370, Acad. Press Inc., New York (1949).
2) 浅川末三：本誌，**19**, 118 (1953).
3) ————：——，**20**, 158 (1954).

4) 清水　亘他：京大食研報告 **No. 19**, 44 (1957).
5) 赤松幹夫：本誌, **26**, 588 (1960).
6) KEPPLER, J. G., SCHOLS, J. A. and DIJKSTRA, G.: *Recueil. Trav. Chim.*, **75**, 965 (1956).
7) JAMES, A. T. and MARTIN, A. J. P.: *Biochem. J.*, **63**, 144 (1956).
8) ———: ——, **50**, 679 (1952).
9) LITTLEWOOD, A. B., PHILLIPS, C. S. G. and PRICE, D. T.: "Gas Chromatography", C. S. G. PHILLIPS ed., p. 76, Butterworths Scientific Public., London (1956).
10) 日本分析化学会編：機器ガス分析法, p. 133, 共立出版, 東京 (1960).
11) HUNTER, I. R., ORTEGREN, V. H. and PENCE, J. W.: *Anal. Chem.*, **32**, 682 (1960).
12) RYCE, S. A. and BRYCE, W. A.: ——, **29**, 925 (1957).
13) AMBERG, C. H.: *Can. J. Chem.*, **36**, 590 (1958).
14) DESTY, D. H. and WHYMAN, B. H. F.: *Anal. Chem.*, **29**, 320 (1957).
15) SUNNER, S., KARRMAN, K. J. and SUNDÉN, V.: *Microchem. Acta*, **1956**, 1144 (1956).
16) 山田桂輔：改訂有機合成化学, p. 393, 修教社, 東京 (1948).
17) 　　: ——, p. 276.

魚肉ねり製品の研究—XIII.

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響（その4）

テトラ燐酸塩およびヘキサメタ燐酸塩添加による かまぼこの足

岡 村 一 弘

(1960年9月5日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—XIII.

THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART 4) EFFECTS OF SODIUM TETRAPHOSPHATE AND SODIUM HEXAMETAPHOSPHATE.

Kazuhiro Okamura*

Succeeding to the previous experiments[1] with ortho-, pyro- and tri-phosphate, is was examined the effect of sodium tetraphosphate (Tr. P. Na) as well as sodium hexameta-phosphate (H. P. Na) added to a normal fish paste as raw material on the jelly-strength of produced Kamaboko.

1) In the case of addition of Tr. P. Na minimal Kamaboko jelly-strengths appeared at three concentrations of this salt, viz., M/1050, M/420 and M/210. Except for a product at M/1050, greater jelly-strengths were generally brought forth as compared with Kamaboko prepared without use of this phosphate. Sodium tetra-phosphate, therefore, may be regarded to exert, when added to the raw paste, a positive effect of enhancing Kamaboko-jelly formation of the fish flesh.

2) In the case of addition of H. P. Na two minimal jelly-strengths were found to appear, one distinctive and situated at 0.1%** addition and the other somewhat obscure and situated at 0.15%**. At additions of this salt in a concentration range lower than 0.2%** in reference to the weight of the paste, only in which palatable products are possible to be obtained, the jelly-strength realized was always inferior to that of Kamaboko without this phosphate. In practice, therefore, any reinforcing effect on jelly-strength cannot be expected from the use of sodium hexametaphosphate.

Insofar as the previously presented relation

$$\frac{1}{2}\sum_i V_i Z_i^2 \times \frac{1}{2}\sum_i |Z_i'| = 0.1$$

does hold also for the jelly-strength minima observed in the present experiments, as it seems to be the case with some of them, certain selective stages of dissociation may be suggested, like the well-known fact with alkali-pyrophosphates, for tetra-phosphate as well as for hexametaphosphate of sodium.

* 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka Japan.)

** Since sodium hexametaphosphate generally obtained from market was not pure, the concentrations were shown as per cent by weight.

正燐酸塩，ピロ燐酸塩，トリ燐酸塩の実験についで，テトラ燐酸塩およびヘキサメタ燐酸塩をそれぞれ単独にいろいろな濃度ですり身に添加して，かまぼこを作り，製品の足の強さが，これら添加塩類の濃度によつて，どのように変化するかをしらべた。

実 験 方 法

1) かまぼこの組成および製法： かまぼこ製造所からかまぼこすり身を購入し，このすり身にテトラ燐酸ナトリウム (Tr. P. Na) およびヘキサメタ燐酸ナトリウム (H. P. Na) をそれぞれ計算量だけ添加する。すなわち，すり身 100 g に計算量の塩を添加して充分に均一になるまでねり合わせ，しかるのちに，これを二分して各々 50 g の餅状塊にし，沸騰水中に投入，25 分間加熱して製品とする。塩類の添加は使用量が僅少のため取り扱い難いので，局方蔗糖で適当に稀釈して使用する。(あらかじめ実験によつて 2 % 以下の蔗糖の添加は足に影響のないことを確めた。) 塩類のモル濃度 (M) はすり身 1 kg に添加した塩類のモル数で示す。ここに使用した購入すり身の組成はハモ肉 30 %，シログチ 34 %，キグチ 35 %，カスザメ 1 %，からなる混合魚肉に小麦澱粉外掛け 10 % (上物かまぼこの場合) または 20 % (並物の場合) と澱粉の倍量の水を添加し，食塩 (約 2.3 %)，砂糖，ミリンなどで調味したものである。Tr. P. Na の実験には澱粉 10 %添加の上物を使用し，H. P. Na の実験には 20 % 澱粉添加の並物を使用した。

2) かまぼこの足の判定および pH の測定： かまぼこ製造後 1 日間 3°C の冷蔵庫に保存したのち，官能検査によつて足の強弱を判定する。pH の測定法，足の強弱の判定法およびその標示法の詳細は X 報[2] に示した通りである。

実験結果および考察

1. テトラ燐酸ナトリウム (Tr.P.Na) 添加の場合

Tr. P. Na をたとえば 0.1 % 分だけ添加したかまぼこの足の強さを (0.1)，無添加の対照のそれを (0) 等々の記号で表わすとその結果は次のようになる。

$$(0) \leqq (0.025) > (0.05) \leq (0.075) \leqq (0.09) \geqq (0.11) \leq (0.16) > (0.22) \leqq (0.25) \leqq (0.3)$$

ただし

$$(0) \geqq (0.05),\quad (0.025) \leqq (0.075),\quad (0.075) \geqq (0.11),\quad (0.09) \fallingdotseq 0.22,\quad (0.11) \leqq (0.22),\quad (0.22) \leqq (0.30),\quad (0.16) \geqq (0.30)$$

これを図示すると Fig. 1 のようになる。すなわち Tr. P. Na では 0.05, 0.11, 0.22% 添加の場合にかまぼこの足が低下して，これらの濃度でかまぼこの足の強さに極小値が見られる。Tr. P. Na は一般に $Na_6P_4O_{13}$ なる分子式であらわされ，6 塩基酸と考えられる。そこでさきに著者が提案したように，かまぼこすり身に塩類が添加された場合には，その塩類の濃度が $1/2\cdot\sum V_i Z_i^2 \times 1/2\cdot\sum |Z_i'| = 0.1$ なる式を満足するときにかまぼこの足の強さに極小値が見られ

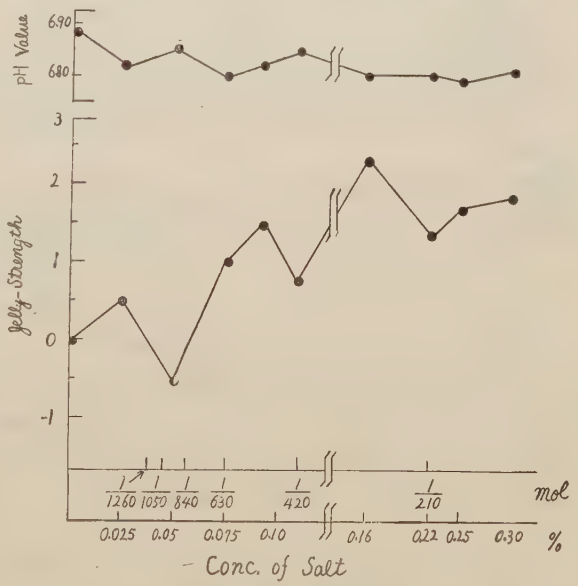


Fig. 1. Values of pH and organoleptically estimated jelly-strengths of Kamaboko specimens prepared by addition of various amounts of sodium tetraphosphate.

るという考えに立つて，この Tr. P. Na の実験結果を考察すると，Tr. P. Na ではこの上の式を満足する濃度は M/1260 (0.037%), M/1050 (0.049%), M/840 (0.056%), M/630 (0.075%), M/420 (0.11%), M/210 (0.22%) となる。したがつて実験結果の 0.05%, 0.11% および 0.22%の極小値はこれらのうちの三つとそれぞれよく一致する。また 0.05 % において最も顕著な極小値が見られたが，これは計算濃度の第 2 極小濃度と全く一致するので，この濃度に対応する極小値と考えられるが，これは計算式から得られる第 1，第 2，第 3，極小塩濃度が 0.037%，0.049%，0.056% と互いに非常に接近しているために，これらの三つの極小値が巨視的に見れば，一つの極小値に収斂したような結果となつてあらわれたのではなかろうか。しかし上記の考え方は全く想像の域を出ないものにすぎない。また 0.075% (M/630) のところに極小値が見られなかつたが，これについては上記のことと一緒にさらに詳細にしらべて見る予定であるが，テトラ燐酸ナトリウムは主として，M/1050, M/420, M/210 濃度でかまぼこの足に極小値を与えるような，三段階の解離だけをするのではないかと考えられる。いずれにしろ 0.05% 濃度近辺では Tr. P. Na 添加かまぼこの足は対照より足が弱いが，それ以外の濃度では Tr. P. Na 添加はかまぼこの足をかなり強めることが判る。Tr. P. Na 添加はピロ燐酸ナトリウムおよびトリ燐酸ナトリウムと同様にかまぼこすり身の流動性を増大させてかなり著しい“だれ”を起させる。本実験に用いた Tr. P. Na の 1 %水溶液の pH は 8.30 であつた。しかし Tr. P. Na を添加したかまぼこの pH はすべて対照の pH より低く，Tr. P. Na の添加量の増大につれて低下する傾向がある。これはさきに T. P. Na(トリ燐酸塩)のところで述べたように Tr. P. Na の加水分解によるためと考えられる。また足の強さの極小のところで pH 値が極大になることは大変興味あることである。

2. ヘキサメタ燐酸ナトリウム (H. P. Na) 添加の場合

1 の Tr. P. Na のきと同じように足の強弱をあらわすと次のようになる。

$$(0) \fallingdotseq (0.025) \fallingdotseq (0.05) \fallingdotseq (0.075) \geqq (0.1) \leqq (0.12) \fallingdotseq (0.15) \leqq (0.20) \leqq (0.25) \fallingdotseq (0.29) \leqq (0.40)$$

ただし

$$(0) \overset{>}{\fallingdotseq} (0.05),\ (0.025) \overset{>}{\fallingdotseq} (0.75),\ (0.025) \fallingdotseq (0.12),\ (0.075) \overset{<}{\fallingdotseq} (0.15),\ (0.05) \fallingdotseq (0.15),\ (0.12) \leqq (0.20)$$

これを図示すると Fig. 2 のようになる。

H. P. Na を添加したかまぼこの足は Tr. P. Na およびその他の燐酸塩を添加した場合にくらべて足の変化が非常に小さく，官能検査による判定がかなり困難である。しかし 0.15 % 濃度付近にやや不明瞭ながら，また 0.10 % 濃度付近にはつきりと足の強さに極小値が，都合 2 カ所見られる。H. P. Na は一般に $Na_6P_6O_{18}$ の式であらわされているが，実際にはいろいろの高分子燐酸塩の混合物であつて分子式 $Na_6P_6O_{18}$ の純粋物質は市販されていない。市販工業製品の純度[3] は 75～90 % らしい。純粋な H. P. Na を使用し，もし H. P. Na が 6 段階に解離するものと仮定するならば，さきに述べた計算式を満足する濃度は，M/1260(0.050 %), M/1050(0.061 %), M/840(0.073 %), M/630(0.10 %), M/420(0.15%), M/210(0.29%) となるので，これらの濃度においてそれぞれ 6 個の極小値が期待される。

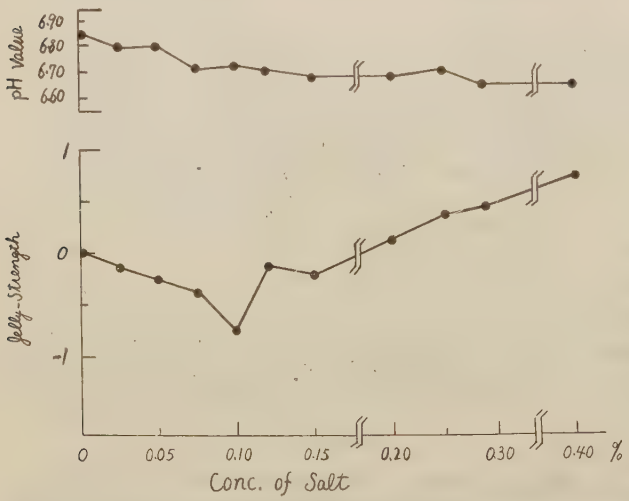


Fig. 2. Values of pH and organoleptically estimated jelly-strengths of Kamaboko specimens prepared by addition of various amounts of sodium hexametophosphate.

しかし H. P. Na はその滴定曲線[3] から見て次のように 2 段にだけ解離するらしい。$H_6P_6O_{18} \rightarrow H_2 \cdot H_4H_6O_{18}$ もしこのように解離するものとすると，この濃度は M/1050(0.073%) と M/420(0.15%) とになる。したがつて本実験に使用した H. P. Na の純度を 75 % とすれば，本実験の結果は充分満足されるように考えられる。いずれにしろ H. P. Na の足補強効果は非常に弱く 0.2 % 以下の濃度では補強効果がなく，かえつて足を低下させる。特に 0.1 % 濃度付近における足の低下は著しい。また H. P. Na 添加による魚肉すり身の "だれ" もかなり著しい。H. P. Na を添加したかまぼこの pH は低下し，添加濃度が高いほどかまぼこの pH 値は低い。H. P. Na を添加したかまぼこの足が対照より強くなるのは 0.2 % 以上の高濃度であり，この濃度では製品に強い収斂味を付するので食用にたえない。正燐酸，ピロ燐酸，トリ燐酸，テトラ燐酸の各塩類，および KI, $MgCl_2$, K_2SO_4[2] の塩類の場合には，これらの塩類がかまぼこの足に極小値を与える「足極小塩濃度」のうちの最低濃度よりもさらに低濃度の添加によつてかまぼこの足は対照より必らず足が強くなつて，塩類濃度による足の変化に一つのピークを形成したが，H. P. Na の場合はこのようなピークの見られないのが一つの特徴である。

要　　約

テトラ燐酸ナトリウムおよびピロ燐酸ナトリウムをそれぞれ単独にいろいろ濃度を変えてかまぼこすり身に添加してかまぼこを作り，かまぼこの足の強さが，これらの塩類濃度によつてどのように変化するかをしらべた。

i)，テトラ燐酸ナトリウム (Tr. P. Na) を添加したかまぼこでは，その濃度が M/1050(0.049%)，M/420(0.11%)，M/210(0.22%) 付近でかまぼこの足の強さに極小値が見られる。この濃度はさきに提案したかまぼこの足極小塩濃度の式を満足する。また Tr. P. Na 添加は 0.05% 近辺の濃度を除いてはすべてかまぼこの足を補強する。

ii)，ヘキサメタ燐酸ナトリウム (H. P. Na) を添加したかまぼこでは添加濃度 0.1% で足が著しく低下して，この濃度で足の強さに明瞭な極小値が見られ，0.15 % 付近においてやや不明瞭な極小値が見られる。ヘキサメタ燐酸は $H_6P_6O_{18} \rightarrow H_2 \cdot H_4P_6O_{18}$ のように解離するという事実および市販 H. P. Na の純度が 75% であるということから考察すれば，この場合も「足極小塩濃度式を満足」するといえる。なお H. P. Na は 0.2 % 以下の濃度では足補強効果がなく，むしろ足を低下させる。H. P. Na 単独で足補強効果の期待できる 0.2 % 以上の濃度ではかまぼこの味に著しい収斂味があるので H. P. Na の単独使用は実用価値がない。

終りに，絶えず御鞭達と激励を賜わつた京都大学の清水亘博士を初め，大阪市立衛生研究所長，岡原国男博士ならびに同研究所の久保正徳博士，田中薫樹博士に厚く感謝申し上げる。またいろいろと有益な御助言を賜つた東京水産大学教授平野弘博士に心から感謝申し上げる。

文　　献

1) 岡村一弘：本誌，**26**，6，600～604，1960.
K. OKAMURA: Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, **26**, 600 (1960).
2) 岡村一弘：本誌，**26**，6，595～599，1960.
3) 小林正克・品川睦門：化学の領域，**8**，2，106～116，1954.

魚肉ねり製品の研究—XIV.

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響（その5）
燐酸塩類混合塩の低濃度添加とかまぼこの足

岡　村　一　弘

(1960 年 9 月 5 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—XIV.
THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART 5)
EFFECTS OF PHOSPHATES AND PHOSPHATE MIXTURES AT HIGH DILUTIONS

Kazuhiro Okamura*

Comparative examination of jelly-strengths was carried out after the method previously reported with 31 kinds of Kamabokos respectively prepared with additions comprising one or two or more selected from the following 5 kinds of phosphates of sodium.

These salts were used in their addition to raw fish paste at concentrations distinctly lower than their lowest concentrations which can produce minima in Kamaboko-jelly-strength, namely, sodium tertiary phosphate (symbolized here as Ort.) tetrasodium pyrophosphate (symbolized as Pyr.) sodium triphosphate (symbolized as Tri.) sodium tetraphosphate (symbolized as Tet.) and sodium hexametaphosphate (symbolized as Hex.) at M/360, M/800, M/1000, 0.05 wt. % and 0.05 wt. %, respectively.

The results are summarized as follows:

1) Additions of two members of said salts in combination always produced specimens inferior in jelly-strength to the control Kamaboko, the smallest strength being realized by simultaneous addition of Pyr. and Tri. As to the pH of produced Kamaboko, simultaneous addition of any two of said phosphates always effected higher values than singular use of the two.

2) Kamaboko with any three of said phosphates proved to be higher in jelly-strength and lower in pH value as compared with those containing only two of the three. Among 10 kinds of Kamabokos prepared in the presence of mixtures of three phosphates, specimens simultaneously containing Ort. and Hex. fell always in a group of smallest jelly-strength.

3) Most of the mixtures comprising 4-5 members of said phosphates showed considerably greater effects of elevating jelly-strength than the mixtures of three members. Through the examination of all possible compositions of mixture, the 4-component mixture consisting of Ort., Pyr., Tri., and Tet. proved to be most effective in elevating jelly-strength, while the mixture of Ort., Pyr., Tri., and Hex. showed rather a depressive effect.

As to the effect of simultaneous addition of four members of said phosphates, mixtures containing both Ort. and Hex. generally produced Kamabokos ranking very low in jelly-strength.

From the results 1), 2) and 3) altogether, it may conclusively be said that simultaneous applications to fish paste of sodium tertiary phosphate at M/360 and sodium hexametaphosphate by 0.05 wt. % lead irrespective of the presence or absence of other phosphates to the production of Kamabokos with jelly-strengths inferior to those realized by any other types of applications of said phosphates, whether singular uses or additions in combination.

* 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka, Japan.)

燐酸塩類は魚肉，食肉ねり製品の結着剤，足補強剤として広く使用されている。燐酸塩類は確かにねり製品の結着力および弾力を強める作用があるが[1)-3)]，しかしまた使用方法を一歩あやまればかえつて弾力を著しく低下させる。しかもこの低下させる作用はある種の混合塩において特に著しいことは著者がすでに確めた[4)]通りである。現在使用されている燐酸塩類はたいていの場合 2～3 種類の燐酸塩類の混合塩であり，その使用量は混合塩として 0.1～0.3 % 程度である。したがつていまこれらの混合塩の成分塩について考えると，その使用量は恐らく 0.03～0.1 % 濃度となる。ところが XII 報[4)]で明らかにしたように，トリ燐酸ナトリウム M/1000 (0.037 %) とピロ燐酸ナトリウム M/800 (0.035 %) の混合塩を添加するとかまぼこの足は著しく低下させられる。この混合塩添加による足の低下は，それらの成分塩の濃度が「第一足極小塩濃度」と一致する時に特に著しい。また第一足極小塩濃度より低濃度の塩類は単独ではかまぼこの足を強めるが，混合して使用すると，かまぼこの足を低下させるという興味ある事実もすでに報告した通りである。そこで XII[4)] 報よりさらに詳しく正燐酸ナトリウム (M/360)，ピロ燐酸ナトリウム (M/800)，トリ燐酸ナトリウム (M/1000)，テトラ燐酸ナトリウム (0.05 %) およびヘキサメタ燐酸ナトリウム (0.05 %) の 5 種類の燐酸塩をそれぞれ上記濃度だけ単独またはあらゆを組み合わせによつて作られた混合塩をかまぼこすり身に添加してかまぼこを作り，これらの燐酸塩添加かまぼこ 31 種と燐酸塩無添加のかまぼこの足の強さとを比較検討してみた。

実 験 方 法

1. 実験材料： さきの XII 報[4)]の実験と同じ魚肉組成のすり身を使用した。

2. かまぼこ製造方法，足の判定法，および pH の測定法： すべて X 報[5)]と同一の方法によつた。

実 験 結 果

1) 燐酸塩無添加の対照を (*Cont.*) で，また M/360 正燐酸塩，M/800 ピロ燐酸塩，M/1000 トリ燐酸塩，0.05 % テトラ燐酸塩および 0.05 % ヘキサメタ燐酸塩を単独に添加したかまぼこをそれぞれ (*Ort.*)，(*Pyr.*)，(*Tri.*)，(*Tet.*)，および (*Hex.*) の記号* であらわし，M/360 正燐酸塩と M/1000 トリ燐酸塩の混合塩を添加したかまぼこを (*Ort. Tri.*) というようにあらわす。これら 5 種の塩類をそれぞれ単独で添加したかまぼこ 5 種類と，5 種の塩類のなかから 2 種の組み合わせによつて得られる 10 種類の混合塩を添加して作つたかまぼこ 10 種類とに

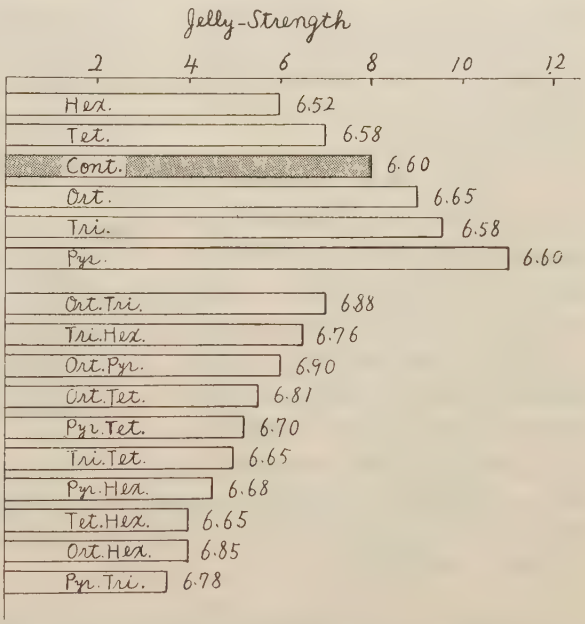


Fig. 1. Comparative jelly-strengths of Kamabokos prepared by adding various phosphates separately or in combination each phosphate being used at a very low concentration. Ort., Pyr., Tri., Tet., Hex., and mixtures from two of them stand for jelly-strengths achieved by using M/360 sodium phosphate, M/800 sodium pyrophosphate, M/1000 sodium triphosphate, 0.05% sodium tetraphosphate, 0.05% sodium hexametaphosphate, and mixtures from two of them, respectively. The numerals in the figure indicate pH values of Kamaboko specimens.

* M/300 正燐酸ナトリウムを Ort.，M/800 ピロ燐酸ナトリウムを Pyr.，M/1000 トリ燐酸ナトリウムを Tri.，0.05 % テトラ燐酸ナトリウムを Tet.，0.05 % ヘキサメタ燐酸ナトリウムを Hex. の記号であらわし，これらの塩を添加したかまぼこをそれぞれ (*Ort.*)，(*Pyr.*)，(*Trt.*)，(*Tet.*)，(*Hex.*) の記号であらわす。

ついてそれぞれ官能検査によつて足の強弱を比較する。これら 15 種類のかまぼこと対照を含めた 16 種類のかまぼこについて対比較 (Pair Test) によつて足の強弱を判定する。今かりに A と B を比較して A が B より足が強いと A>B, A が B よりやや強いと A≧B, A が B よりかなり強いと A≥B, A が B より著しく強いと A≫B, A と B がほとんど等しいと A≒B の記号であらわす。そして ≒, ≧, >, ≥ および ≫ の記号であらわされる足の強さの差異を 0, 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0 ポイントとする。いま (*Cont.*) の足の強さを 8 ポイントとかりにきめ，上記の方法によつて 16 種のかまぼこの足をできるだけ多くの「対」について比較した結果をまとめると Fig. 1 のようになる。図中の数字はかまぼこの pH 値を示す。

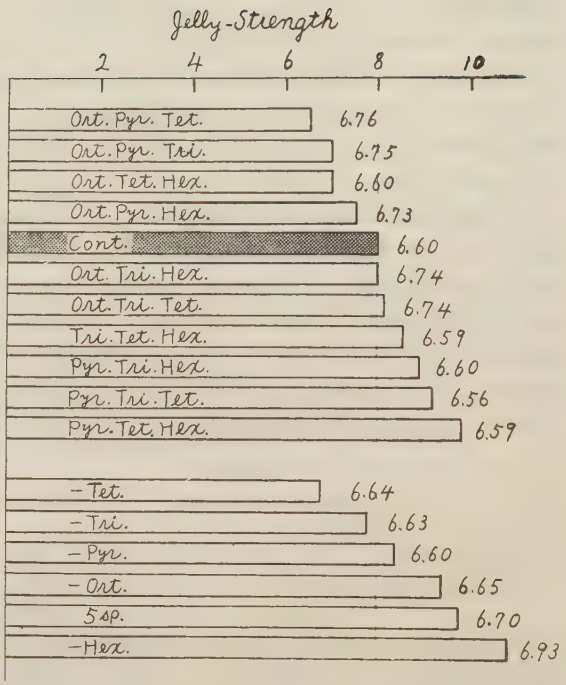


Fig. 2. See the explanation of Fig. 1! Ort., Pyr., Tri., —Hex., and 5sp. stand for jelly-strengths achieved by using a mixture of M/360 sodium phosphate, M/800 sodium pyrophosphate and M/1000 sodium triphosphate, a mixture lacking only in sodium hexametaphosphate from all the rest to follow this example, and mixture comprising all said five phosphates, respectively.

2) たとえば正燐酸塩，ピロ燐酸塩，およびトリ燐酸塩の 3 種の混合塩を添加したかまぼこを (***Ort. Pyr. Tri.***) の記号であらわし，正燐酸塩，ピロ燐酸塩，トリ燐酸塩およびテトラ燐酸塩を添加したかまぼこを，このものは 5 種の塩類のうち，ヘキサメタ燐酸塩だけがかけているから，(***−Hex.***) の記号であらわす。また 5 種の燐酸塩すべてを含むかまぼこを (***5 sp.***) の記号であらわす。5 種の燐酸塩のなかから組み合わせの異なる 3 種混合塩 10 組みと，4 種の燐酸塩からなる混合塩 5 組みおよび 5 種の燐酸塩すべてを含む混合塩 1 組み，合計 16 組の混合塩を作り，これらを添加したかまぼこについて，その足の強さを 1) の方法と同様に比較した。その結果は Fig. 2 の通りである。

考　　察

i)，単独塩添加のものでは (***Hex.***), (***Tet.***) が (***Cont.***) より足は弱いが，他は足が強い。これは XII[4]～XIII[6] の結果とよく一致する。

ii)，2 種の燐酸塩からなる混合塩ではこれら 10 組のすべてにおいて例外なく (***Cont.***) より足が低下していることは注目に値する。XII 報[4] で述べたように (***Pyr. Tri.***) がこの場合にも最も足が弱い。またこれら 2 種の燐酸塩からなる混合塩では (***Tri. Hex.***) を除く他の 9 組のすべてにおいてその構成塩単独添加の場合より足が弱い。たとえば (***Pyr. Hex.***) は (***Pyr.***) または (***Hex.***) のいずれよりも足が弱い。また興味あることは混合塩添加かまぼこの pH はすべて例外なく単独塩添加かまぼこより pH 値が高くなつている。たとえば (***Tet.***) と (***Hex.***) の pH 値は 6.58 と 6.52 であるが (***Tet. Hex.*** の pH 値は 6.65 となつて (***Tet.***), (***Hex.***) のいずれより pH が高い。2 種の燐酸塩からなる混合塩を添加すると，これらの燐酸塩を単独に添加したいずれの場合よりも足は著しく低下し，かつその pH 値も単独塩添加のいずれの場合よりも高くなるということは，理由は不明であるが，非常に興味あることである。XIII[6] 報のテトラ燐酸塩添加

によるかまぼこの足の変化 (Fig. 1) において，足の強さが極小値を示すところで pH 値が極大を示すという事実と同じような結果となつているが，何か関連がありそうである。

(*Tri. Hex.*) (6.76) > (*Pyr. Hex.*) (6.68) ≧ (*Tet. Hex.*) (6.65) ≒ (*Ort. Hex.*) (6.85)
(*Ort. Tet.*) (6.90) ≧ (*Pyr. Tet.*) (6.70) ≧ (*Tri. Tet.*) (6.65) ≧ (*Tet. Hex.*) (6.65)
(*Ort. Tri.*) (6.88) ≧ (*Tri. Hex.*) (6.76) ≧ (*Tri. Tet.*))6.65) ≧ (*Pyr. Tri.*) (6.78)
(*Ort. Pyr.*) (6.90) ≧ (*Pyr. Tet.*) (6.70) ≧ (*Pyr. Hex.*) (6.68) ≧ (*Pyr. Tri.*) (6.78)
(*Ort. Tri.*) (6.88) ≧ (*Ort. Pyr.*) (6.90) ≧ (*Ort. Tet.*) (6.81) ≧ (*Ort. Hex.*) (6.85)

いまこのようにならべて見ると (*Ort. Hex.*) と (*Pyr. Tri.*) は例外であるが，この二つを除くと，たとえば，これらの系列においては最下段の Ort. の入つた系列以外では足の強いものほど pH 値も高いということができる。Fig. 1 からもわかるように (*Pyr. Tri.*) と (*Ort. Hex.*) の足が最も弱く，かつ上に述べたようにこの二つだけが pH の値も例外であるということは，2種の燐酸塩からなる混合塩を添加したかまぼこにおいては，ピロ燐酸塩とトリ燐酸塩とは互いに，また正燐酸塩とヘキサ燐酸塩とも互いに相手に強く影響を与え合うのではないかと考えられる。

iii)，3種類の燐酸塩からなる混合塩を添加したかまぼこの足の変化は Fig. 2 の通りである。この結果から3種混合塩添加かまぼこでは，(*Ort. Tri.*) を除いたすべての2種混合塩添加かまぼこより足が強くなる。3種混合塩添加かまぼこ中では Ort. の入つたものはすべて足が弱い方に位置しており，また3種混合塩添加かまぼこの足の強いものには Ort. Hex. が同時に含まれていないこと，および2種混合塩添加かまぼこの場合にも (*Ort. Hex.*) の足が最も弱かつたことから，Ort. と Hex. の共存はかまぼこの足を著しく低下させるようである。

2種だけの混合塩のときには (*Pyr. Tri.*) が最も足が弱かつたが，この Pyr. Tri. に Tet. または Hex. が加わつて3種混合塩添加かまぼことなると足が著しく強められる。このことは2種の燐酸塩からなる混合塩の場合と3種の燐酸塩かなる混合塩の場合とでは各燐酸塩はかまぼこのなかで相互に全く異なつた作用のし方をするようである。Pyr. Tet. Hex. が3種混合塩中では最も足補強力の強いのは結局，この組み合せには Ort. Hex. および Pyr. Tri. の組み合わせが含まれていないためであろう。またどの3種混合塩をとつて見ても，それらを構成する3種の燐酸塩を組み合わせてできる3組の2種混合塩より例外なく足補強作用が強い。このことは2種混合塩添加かまぼこでは例外なく足が低下するが，その2種混合塩にさらに1種の燐酸塩が加わつて3種混合塩となると，これを加えたかまぼこでは例外なくある程度足が恢復することとなる。pH の値は3種混合塩添加かまぼこの場合は2種混合塩添加かまぼこの場合より一般に低下する。

たとえば (*Pyr. Tri.*), (*Tri. Hex.*), および (*Pyr. Hex.*) の pH はそれぞれ 6.78, 6.76, および 6.68 であるが (*Pyr. Tri. Hex.*) では 6.60 となつて，その構成塩添加かまぼこのいずれよりも低くなる。しかし Ort. の入つた (*Ort. Pyr. Tet.*), (*Ort. Trt. Hex.*) および (*Ort. Pyr. Hex.*) は例外である。さきに Ort. の入つたものは足が弱いことを述べた。3種混合塩では Fig. 2 から明らかな通り，Ort. の入つたものはすべて pH が高い。したがつて3種混合塩では pH の高いものは足が弱く，足の強いものは pH が低いということができる。

iv)，4種または5種の燐酸塩からなる混合塩添加かまぼこにあつては相対的に3種混合塩添加かまぼこの場合よりやや足が強くなる。4種混合塩添加かまぼこ中では，(−*Hex.*) と (−*Ort.*) が最も足が強い。これはこの二つの場合には，これらの混合塩中には Hex. と Ort. が同時に存在しないために足が強いのであろうと考えるとさきの場合と一致する。また (−*Tet.*) は最も足が弱いが，これはこの混合塩には Ort. Hex. と Pyr. Tri. の二つの組み合せが同時に存在するためであろう。2種混合塩添加かまぼこの場合には (*Pyr. Tri.*) と (*Ort. Hex.*) が最も足が弱かつたが，この最も足を低下させる2種混合塩が同時に存在すると足補強効果が著しく低下するのも当然と考えられる。5種混合塩添加かまぼこ (5 *sp.*) が (−*Hex.*) より足が弱いのもこの5種混合塩のなかには Hex. Ort. と Tri. Pyr. の組み合わせが同時に存在するためではなかろうか。(−*Tet.*) すなわち (*Ort. Pyr. Trt. Hex.*) のかまぼこについて考えると，このものは Ort. Hex. と

Pyr. Tri. の最も足の弱い組み合せの2種混合塩が混合されたものであるが (*Ort. Hex.*) は4ポイント, (*Pyr. Tri.*) は 3.5 ポイントであり，この二つが同時に混合されて4種混合塩添加かまぼこととなると 6.75 ポイントとなつて足はかなり恢復する。

(*Ort. Hex.*) (4 ポイント) + Tri. → (*Ort. Tri. Hex.*) (8 ポイント)
(*Pyr. Tri.*) (3.5 ポイント) + Ort. → (*Ort. Pyr. Tri.*) (7 ポイント)
(*Ort. Hex.*) (4 ポイント) + Pyr. → (*Ort. Pyr. Hex.*) (7.5 ポイント)
(*Pyr. Tri.*) (3.5 ポイント) + Hex. → (*Pyr. Tri. Hex.*) (8.75 ポイント)
(*Ort. Hex.*) (4 ポイント) + Tri. Pyr. → (*Ort. Pyr. Tri. Hex.*) (6.75 ポイント)
(*Ort. Hex.*) (4 ポイント) + Tet. → (*Ort. Tet. Hex.*) (7 ポイント)
(*Pyr. Tri.*) (3.5 ポイント) + Tet → (*Pyr. Tri. Tet.*) (9.25 ポイント)

これらのことは2種混合塩は足を著しく低下させるが，これらに他の1種が入つて3種混合塩となると足低下作用はかなり消失し，あるいはあるものでは足補強効果をもつようになる。また2種混合塩にさらに他の2種混合塩が加わつて4種混合塩となつた場合は足低下作用はほとんど消失して足補強効果が現われる。たとえば最も足を低下させる2種混合塩の一つである Ort. Hex. に同じく足低下作用の最も強い Pyr. Tri. の2種混合塩が加わつて4種混合塩となると足低下作用はほとんどなくなる。

以上のことを要約すると，2種類の燐酸塩の混合塩は，それらの燐酸塩が単独のときには足補強効果がある場合でも著しく足を低下させる。そして Pyr. Tri. と Ort. Hex. の組み合せがそれぞれ最も足を低下させる。またかまぼこの pH 値は単独塩添加の場合より高くなる。2種混合塩に他の燐酸塩がさらに加わつた3種混合塩では足の低下作用は減少し，あるいは消失してむしろ足補強効果が現われる。またこれら塩類を添加したかまぼこの pH 値は2種混合塩添加の場合と比較して3種混合塩添加かまぼこでは低下する。3種混合塩を添加したかまぼこの足はその混合塩のなかに Ort. と Hex. を同時に含む塩を添加したものが最も足が弱い。4種混合塩を添加したかまぼこの足はかなり強くなる。4種混合塩中では Ort. Pyr. Tri. Tet. の混合塩が最も足補強効果がある。しかし Ort. Pyr. Tri. Hex. は足補強効果がなく，むしろ足を低下させる。このことは4種混合塩にあつてもその混合塩中に Ort. と Hex. を同時に含むものは足補強効果が弱く，Ort. と Hex. を同時に含まぬ混合塩が最も足補強効果が強いことを示している。

要　　約

第1足極小塩濃度よりも低濃度の各種燐酸塩，すなわち，M/360 正燐塩ナトリウム (Ort.), M/800 ピロ燐酸ナトリウム (Pyr.), M/1000 トリ燐酸ナトリウム (Tri.), 0.05 % テトラ燐酸ナトリウム (Tet.), および 0.05 % ヘキサメタ燐酸ナトリウム (Hex.) の5種の燐酸塩をそれぞれ単独またはあらゆる組み合わせの混合塩として，かまぼこすり身に添加してかまぼこを作り，このようにしてできる 32 種のかまぼこについて，その足の強弱を比較検討し，低濃度燐酸塩混合物の足補強効果をしらべた。その結果，

i) 2種の燐酸塩からなる混合塩は，その成分塩が単独使用されると足を補強する場合でも例外なくすべてかまぼこの足を低下させる。なかでも Pyr. Tri. と Ort. Hex. の混合塩はそれぞれ最も強く足を低下させる。また2種の塩を添加したかまぼこの pH はその2種の塩のどちらかを単独で添加したかまぼこの pH より高くなる。

ii) 2種の燐酸塩からなる混合塩（2種混合塩）は足低下作用が強いが，この2種混合塩にさらに1種の塩が加わつて3種混合塩となると，足低下作用は減小し，あるいは消失して，むしろ足補強効果があらわれる。また3種混合塩添加かまぼこの pH は2種混合塩添加かまぼこのそれと比較して低下する。3種混合塩添加かまぼこ 10 種類のなかでは Ort. と Hex. を同時に含むものが最も足が弱い。

iii) 4, 5 種混合塩は3種混合塩よりも足補強効果がかなり強く，Ort. Pyr. Tri. Tet. の混合塩が最も足補強効果が強い。しかし Ort. Pyr. Tri. Hex. の混合塩は足補強効果がなく逆に足を低下させる。4種混合塩においても，それを構成する成分塩中に Ort. Hex. の組み合わせのないものが最も足補強効果が強

い。このことより Ort. と Hex. を同時に含む混合塩は足補強効果が弱いか，あるいは足を低下させるということができる。

終りに，絶えず御鞭達と激励を賜わつた京都大学の清水亘博士を初め，大阪市立衛生研究所長，岡原国男博士ならびに同研究所の久保正徳博士，田中薫樹博士に厚く感謝申し上げる。またいろと有益な御助言を賜わつた東京水産大学教授平野弘博士に厚くお礼申し上げます。

文　　献

1) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，10，821～825，1959.
2) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，12，978～985，1959.
3) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄：本誌，**24**，12，986～993，1959.
4) 岡村一弘：本誌，**26**，6，605～609，1960.
5) 岡村一弘：本誌，**26**，6，595～599，1960.
6) 岡村一弘：本誌，前報第 XIII 報.

魚肉ねり製品の研究—XV.

かまぼこすり身に添加された塩類の足におよぼす影響（その6）

澱粉含有量のことなるかまぼこに対する各種塩類の足補強効果の比較

岡　村　一　弘

(1960 年 9 月 5 日受理)

STUDIES ON THE "KAMABOKO" AND FISH SAUSAGE PRODUCTS—XV. THE SPECIAL CONCENTRATION OF SALT IMPEDING THE KAMABOKO-FORMATION (PART 6) EFFECTS OF PHOSPHATES ON JELLY-STRENGTH DEVELOPMENT OF KAMABOKO IN THE PRESENCE OF STARCH.

Kazuhiro Okamura*

Effects of five phosphates, KI and $MgCl_2$ as jelly-strength reinforcer were comparatively studied by preparing 96 kinds of Kamaboko specimens from raw paste comprising flesh of either *Nibea argentata* or *Makaira mazara* and starch, starch content of the paste being adjusted to 0, 5, 10, 15, 20 and 25 % by weight. Sodium salts as tertiary phosphate, pyrophosphate, triphosphate tetraphosphate and hexametaphosphate, potassium iodide and magnesium chloride were used at such amounts that their contents in the paste corresponded to 0.3, 0.3, 0.2, 0.15, 0.2, 0.66 and 1.0 %, respectively.

In the following summary of the results and also in the figures appended Kamaboko specimens containing said five kinds of phosphates are represented by symbols Ort., Pyr., Tri., Tet. and Hex., respectively, and those with KI and $MgCl_2$ by KI and Mg..

I. Results with Kamabokos prepared from frozen flesh of *Nibea argentata*:

1) Preparations in this case showed very high pH values (7.17-7.38), while any of the tertiary phosphate, pyrophosphate and triphosphate added had a more or less strong depressive effect on jelly-strength of Kamaboko independent of starch addition, said effect culminating in the case of sodium pyrophosphate.

2) Sodium tetraphosphate and sodium hexametaphosphate both doing not produce high alkalinities displayed jelly-strength reinforcing effects in the case of Ort.'s and Hex.'s at 0, 15 and 20 % starch contents.

3) Addition of KI or $MgCl_2$ led to the formation of Kamaboko with elevated jelly-strengths, the jelly-strengths in the presence of 0, 5, 10, 15, and 20 % starch, respectively, being more strongly reinforced by KI than $MgCl_2$.

4) As to the reinforecement effected by starch addition, specimens with largest jelly-strengths were always given rise to when the starch contents thereof were equally 10 %, independent of the kind of added salt.

II. Results with Kamabokos prepared from frozen flesh of *Makaira mazara*.

1) The specimens showed considerably low pH values (5.90-6.20). Any of said seven salts was more or less effective in elevating the jelly-strength when Kamabokos were prepared in the presence of 0, 5, 10 and 25 % starch, while, to say in addition, Pyr.'s and Tet.'s proved to be especially reinforced in jelly-strength at starch contents of 20 and 15 %, respectively.

* 大阪市立衛生研究所 (Osaka Municipal Hygienic Lab., Kita-ku, Osaka, Japan.)

2) Addition of KI or $MgCl_2$ caused the raw flesh of *Makaira mazara* to be manufactured into Kamabokos with considerably elevated jelly-strengths. In the case of Kamabokos with 0, 5 and 10 % starch, KI and $MgCl_2$ were almost of an equal effect, while KI was superior in said effect to $MgCl_2$ in the case of Kamabokos at 15, 20 % starch contents.

From these results, it may be said in general that polyphosphates of sodium exert their effect of elevating Kamaboko jelly-strength more strongly in the presence than in the absence of added starch.

燐酸塩類は品質改良剤，特に足補強剤として広くねり製品に使用されている。著者も燐酸塩類はねり製品の足を著しく強めることを確め[1)-5)]，いろいろ燐酸塩類の足補強効果およびその作用機構について研究を進めている。しかしねり製品といつても，かまぼこ類と魚肉ソーセージ類ではかなり製品の性質がことなるために燐酸塩類の使用にあたつてその選択が問題となる。またさきにかまぼこにおいて澱粉の含有量の相違によつて燐酸塩類の足補強効果がことなることを知つたので，かまぼこを代表してキグチ (pH 7.0～7.3)，魚肉ソーセージを代表してクロカワ (pH 5.8～6.2) を用い，キグチ，クロカワをそれぞれ魚肉原料として単独で使用して，いろいろ澱粉含量のことなるかまぼこを作り，正燐酸，ピロ燐酸，トリ燐酸，テトラ燐酸，ヘキサメタ燐酸のナトリウム塩が魚種の相違および澱粉含量の相違によつて，どのようにかまぼこの足に影響するかを調べた。また塩化マグネシウム，ヨードカリはかなりかまぼこの足を強める[4)5)]ので，同時にこれらの足補強効果をしらべ燐酸塩類の効果と比較検討したので，その結果と二，三の考察について述べる。

実　　験

かまぼこの製造:

i) 材料魚肉: キグチはかまぼこ製造所で採肉したミンチ肉を購入し(キグチは冷凍品)，クロカワは冷凍クロカワを解凍後カッターにかけてミンチにしたものを使用した。

ii) すり身の調製: 上記のキグチ，またはクロカワのミンチ肉を使用し，ミンチ肉 100 g に食塩 3 g の割で加えて充分に荒摺りし，この荒らずり肉にそれぞれ澱粉外掛け 5 %，10 %，15 %，20 %，25 %，および澱粉の倍量の 4.5%食塩水を加えてすり上げ魚肉すり身とする。無澱粉かまぼこは荒らずり身をそのままさらに充分にすり上げて無澱粉すり身とする。

iii) かまぼこの製造: ，上記のようにして作つた澱粉含量 0，5，10，15，20，25 % の 6 種のすり身に 0.3 % 正燐酸ナトリウム ($Na_3PO_4.12H_2O$) 0.3 % ピロ燐酸ナトリウム ($Na_4P_2O_7.10H_2O$) 0.2 % トリ燐酸ナトリウム，0.15 % テトラ燐酸ナトリウム，0.2 % ヘキサメタ燐酸ナトリウム，0.66 % ヨードカリ，および 1.0 % 塩化マグネシウムをそれぞれ別々に添加して，澱粉含量と塩類の組み合わせによつて，都合 96 種のかまぼこを作る。かまぼこはすり身 120 g を 2 分して 1 個 60 g の餅状となし，沸騰水浴中で 25 分間加熱してかまぼことする。

iv) 足の強弱の判定および pH の測定: いずれも前報と同じ。

実験結果と考察

I. キグチ肉かまぼこ

i)，澱粉含有量 0，5，10，15，20，25 % の 6 つの group について，澱粉量同一のかまぼこでは上記 7 種の塩のうちどの塩が最も足補強効果が強いかを 48 種のかまぼこについて試験した。その結果は Fig. 1 の通りである。またこれら 48 種のかまぼこの pH 値はそれぞれ Fig. 1, Fig. 2 の図中に示す。

ただし正燐酸ナトリウム (P. Na)，ピロ燐酸ナトリウム (P. P. Na)，トリ燐酸ナトリウム (T. P. Na)，テトラ燐塩ナトリウム (Tr. P. Na)，ヘキサメタ燐酸ナトリウム (H. P. Na)，ヨードカリ (KI)，および塩化マグネシウム ($MgCl_2$) を添加したかまぼこをそれぞれ Ort., Pyr., Tri., Tet., Hex., KI, Mg., の記号であらわし，塩類無添加のかまぼこすなわち対照を Cont. であらわす。

Fig. 1 から明らかなように，澱粉量のいかんにかかわらず，各 group において Pyr., Tri. はすべて Cont. より足が弱い。

これらのことはキグチ肉かまぼこでは P. Na, P. P. Na, T. P. Na などのアルカリ性の強い燐酸塩類は澱粉量に関係なく足補強効果がなく，逆に足を低下させることが判る。キグチ肉は pH が非常に高く無澱粉 Cont. において pH 値は 7.38 を示す。前報[7] でもふれたように，かまぼこの足は pH が 7.3 以下の場合には（特に 6.0～7.0 の範囲では）pH が高いほど足は強くなるが pH 7.3 以上ではかえつて足が低下する。また P. Na, P. P. Na, T. P. Na の足補強効果は主としてこれら塩類添加による pH の上昇（pH < 7.3 での）が一因であり，中和した P. Na, P. P. Na, T. P. Na は足補強効果が弱[8] いことを述べた。この実験によつてさらにこれらのことが確められたわけである。しかし無澱粉かまぼこでは Ort. は Cont. より足が強く，Pyr. または Ort. は Cont. よりさほど足は弱くないのに澱粉 5～20 % かまぼこでは Ort., Pyr., Tri., は著しく足が弱いのはなぜであろうか。無澱粉の Ort. が Cont. より足が強いのに 5 %澱粉かまぼこでは Ort. の足が著しく低下する。これはアルカリ性燐酸塩の添加によつて添加された澱粉の糊化が促進され，pH が 7.88～7.30 のように高くかつ本実験のように小さなかまぼこを沸騰水中で煮沸するような製造条件下では澱粉粒子の崩壊が促進されるためではないだろうか。澱粉の足補強効果にその粒子性の必要なこと[9),10)] から考えて上のような説明も考えられる。

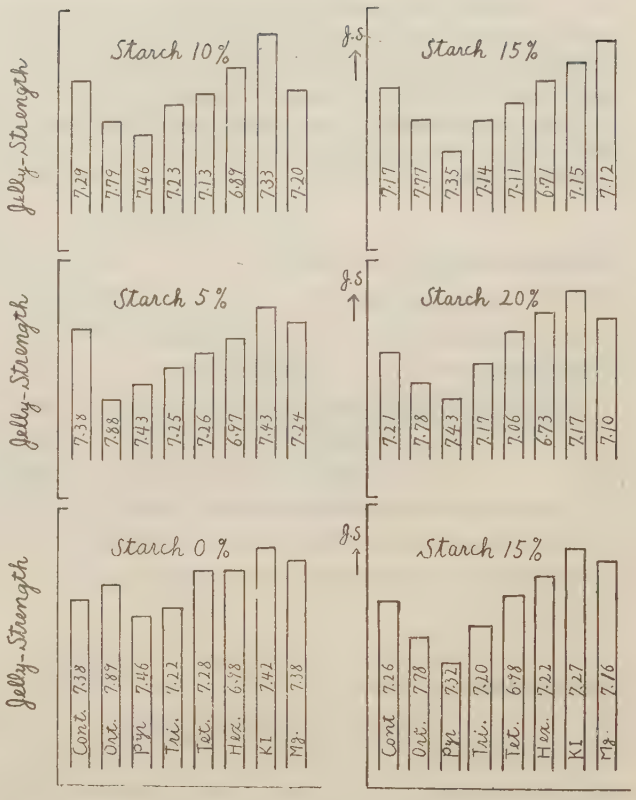


Fig. 1. Comparisons of the effects of different salts on jelly-strength of *Nibea* Kamabokos containing various amounts of starch.

Cont., Ort., Pyr., Tri., Tet., Hex., KI, and Mg. stand for Kamabokos prepared with additions of no salt, 0.3% sodium pyrophosphate, 0.2% sodium triphosphate, 0.15% tetraphosphate, 0.2% sodium hexametaphosphate, 0.66% potassium jodide and 1.0% magnesium chloride, respectively. The numerals in the figure indicate pH values of Kamaboko specimens.

Nibea Kamaboko: Preparations from a frozen flesh of *Nibea argentata*.

Tr. P. Na, H. P. Na の添加は無澱粉かまぼこにはやや足補強効果があるが 5, 10 % 澱粉かまぼこではかえつて Cont. よりも足が弱い。しかし澱粉 15, 20 % かまぼこにおいては Tet., Hex. の足は補強されて Cont. よりも強くなる。したがつて Tr. P. Na, H. P. Na の足補強効果は澱粉量の多いかまぼこに対して大きいことが判る。また Tet., Hex. ではすべて Cont. より pH が低下している。Tr. P. Na, H. P. Na は澱粉量 15, 20 % のかまぼこに対して足補強効果があることおよびこれらかまぼこの pH が低下することから考えて Tr. P. Na, H. P. Na は澱粉と肉質との間の何らかの関係に微妙に作用するものと考えられる。

KI, $MgCl_2$ を添加したかまぼこは澱粉量に関係なく常に Cont. より足が強い。しかも澱粉量，0, 5, 10,

15, 20 % のかまぼこでは KI を添加したかまぼこの足が最も強い。KI は食品添加物として許可されていない上に味も悪いため利用価値は少ないが KI のアクトミオシンに対する特異作用と考え合わせて，このことは興味がある。

ii)，燐酸塩類および KI, $MgCl_2$，をそれぞれ添加したかまぼこおよび薬品無添加のかまぼこの 8 group にわけて上記の薬品が澱粉含有量の相違によつてどのように足に影響するかを比較するため，48 種のかまぼこを各薬品別に澱粉含有量順に並べて見ると Fig. 2 のようになる。

Fig. 2. Effects of various salts on jelly-strengths of *Nibea* Kamaboko changing with the amount of added starch.
As to the details, see the explanation under Fig. 1!

澱粉含有量の著しく異なるかまぼこの足を比較することは非常に困難である。澱粉含有量がことなるとかまぼこのかたさ，歯切れ，弾力の性質がことなるために当然足の性質が異なる。例えば無澱粉かまぼこの足の強いものはゴムのような「歯応え」があるが，澱粉量 20～25 % のかまぼこになると“だんご”のような“歯応え”となる。したがつてゴム弾性とだんご感様弾性を比較することは厳密な意味では不可能である。性質のことなる足の強さを比較するには破断応力および破断伸長を測定する方法も不適当なことをさき[11]に述べた。官能検査によつても非常に困難なことは上記の通りであるが，澱粉含有量 5 % 前後の差の場合には足の性質が割合に互いに似寄つているために比較はさほど困難ではない。したがつて Fig. 2 の結果においてたとえば澱粉 0～5 % のものと澱粉 20～25 % のものの比較は困難である。このような場合には澱粉 10～15 % のかまぼこの足を媒介として澱粉 0～5 % のものと澱粉 10～15 % のものを比較し，一方また澱粉 10～15 % のものと澱粉 20～25 % のものを比較して，その差異の大小からいちおう澱粉 0～5 % のものと澱粉 20～25 % のものの強弱を比較するという方法をとつた。したがつてこのような意味から Fig. 2 の足の比較は相対的なものであり，Fig. 2 の図中で澱粉 0 % のものと澱粉 20 % のものの比較において，たとえ澱粉 20 % のものが大きくあらわれていても，その差が著しいときは別であるが，差の小さいときは図か

ら直ちに澱粉 20 % のかまぼこの足の方が澱粉 0 % のものの足より強いとはいえない。しかし澱粉含量 (0, 5, 10 %), (5, 10, 15 %), (15, 20, 25 %) の範囲の比較は余り困難を感じない。

Fig. 2 の結果から判ることはキグチかまぼこにあつては無澱粉かまぼこでは非常に足が弱いが，澱粉が 5～10 % 添加されると薬品の添加，無添加にかかわらず，急激に足が強められることが判る。実験に使用したキグチは冷凍品で非常に鮮度が悪いために特にこのような結果になつたのであろう。

非常に新鮮な魚を使用すれば無澱粉かまぼこでも充分足が強く 5～10 % 澱粉添加によつて本実験の結果におけるほど著しく足が強められるようなことはないのではなかろうか。

いずれにしろキグチを原料とするかまぼこにあつて薬品の添加，無添加にかかわらず澱粉含有 10 % の場合に最も足が強くなる。Tr. P. Na 添加かまぼこの場合は例外であつて澱粉 5 % かまぼこの足が最も強くなつている。またさきにも述べたが Fig. 2 からも P. Na, P. P. Na, T. P. Na を添加した group は Cont. group に比較して相対的に足が弱いことが明らかである。

Fig. 2 の 8 つの図形に著しい差がないことから考えて，7 種類の塩類の足補強効果，または足におよぼす作用はそれぞれ相似しており，ある薬品（塩類）は澱粉含有量いくらかのときに最も効果があるといつたような特徴は余りなさそうである。

II. 魚肉としてクロカワを用いた場合

i), 澱粉含有量の異なる 6 種のクロカワかまぼこに対する燐酸塩および KI, $MgCl_2$ の足補強効果の比較は Fig. 3 の通りであつて，pH 値は Fig. 3, Fig. 4 の図中に示す。

無澱粉かまぼこでは Tri. の足が最も強く Ort., KI, Mg. の足はほぼ等しく Tri. につぐ。Pyr., Tet., Hex. は余り足が強くない。

pH の値は Ort. を除いてはすべて薬品添加のものの pH が低い。

澱粉 5 %，10 % 添加のかまぼこにおいては Fig. 3 から明らかなようにその図形は全くよく似ていて，Tri. が最も足が強く，澱粉添加のもののなかでは Tet. が最も足が弱い。しかしいずれも Cont. より足が強い。無澱粉のかまぼこと澱粉 5～10%かまぼこが著しくことなる点は澱粉 5～10 % 添加かまぼこでは Pyr., Tri., Hex. は著しく足が補強されることである。しかし Tet., KI, Mg. も無澱粉の場合よりも澱粉が添加された方が足が強い。

pH の値は，澱粉 5 % かまぼこでは Hex. のみが Cont. より低く，澱粉 10 % かまぼこでは Hex., Mg. が Cont. より低いが，他はすべて

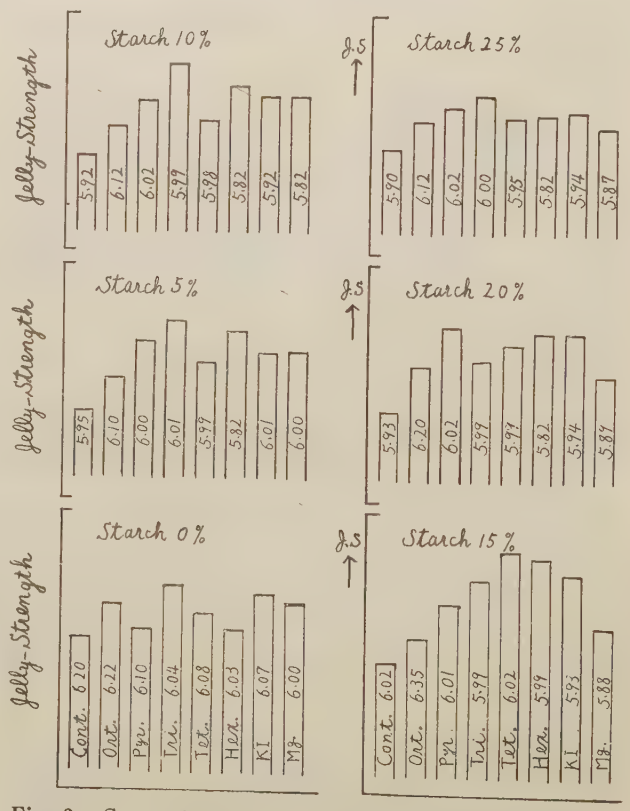


Fig. 3. Comparisons of the effects of different salts on jelly-strength of *Makaira* Kamaboko containing various amounts of starch.

Makaira Kamaboko: Preparations from a frozen flesh of *Makaira mazara*.

As to the details see the explanation under Fig. 1!

Cont. より pH 値が高くなつている。

このことは，無澱粉かまぼこでは Ort. 以外は Cont. より pH 値が低かつたことと比較して全く逆になつている。

澱粉 15 % かまぼこでは Tr. P. Na および H. P. Na が最も足補強効果があり KI, T. P. Na がこれに次ぐ。澱粉 5～10 % かまぼこと 15 % かまぼこの比較において，特に著しい違いは澱粉 5～10 % かまぼこでは足補強効果の余りなかつた Tr. P. Na が澱粉 15 % かまぼこにおいて最も効果が強くなつたことと $MgCl_2$ は澱粉 15 % かまぼこになると足補強効果が減少することである。澱粉 20 % かまぼこでは Pry. が最も足が強く Hex., KI がこれに次ぐ。

澱粉 25 % かまぼこに対しては T. P. Na が最も足補強効果が強く，他の塩類の足補強効果はほぼ等しい。また澱粉 25 % かまぼこでは，薬品無添加のものとの足の差が小さくなる。これは当然のことであつて，澱粉が 25 % 添加されると澱粉の倍量の水が加えられるため結局澱粉と水によつて 75 % 増量されるから，このかまぼこにあつては蛋白量は 100/175 となる。したがつて澱粉 25 % かまぼこでは "だんご" のような感じが強い。この実験に使用した薬品類は肉蛋白に特異的に作用するものであるため，澱粉そのものには余り作用がないと考えられる。したがつて 25 % 澱粉添加かまぼこにはこれら薬品の足補強効果が少ないのも当然と考えられる。

ii), 澱粉含有量と燐酸塩類および KI, $MgCl_2$ の足補強効果

さきにキグチのところ (I の ii) で述べたとおり魚肉材料，製造条件が全く同一であつても澱粉含有量の著しく異なるかまぼこの足を比較することはかなり困難であるが，無澱粉，澱粉 5, 10, 15, 20, 25 % 添加かまぼこについて澱粉含有量の違いによつて燐酸塩類（5 種）および KI, $MgCl_2$ などの塩類の足補強効

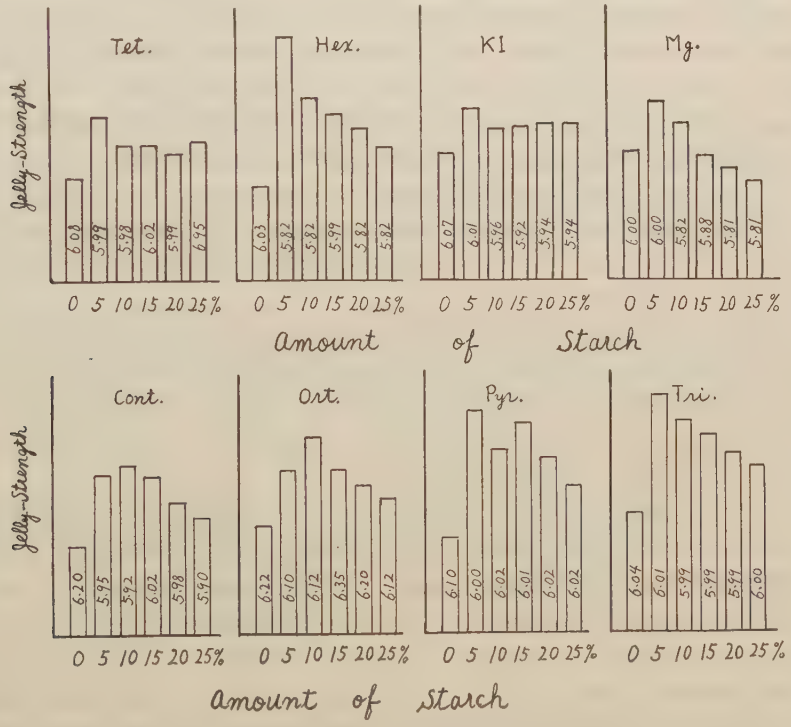


Fig. 4. Effects of various salts on jelly-strengths of *Makaira* Kamaboko changing with the amount of added starch.
As to the details, see the explanation under the Fig. 1!

果がどのように変化するかを見た。その結果は Fig. 4 のようになる。

a), 薬品無添加かまぼこ群 (Cont. grup) では澱粉 10 % 添加のものが最も足が強く澱粉 5, 15 % のものがこれに次ぐ。しかも澱粉 5, 10, 15 % のかまぼこの足はほとんど等しく大差がない。無澱粉かまぼこに比較して 5 % 澱粉かまぼこでは著しく足が強くなる。

b), P. Na 添加かまぼこ群 (Ort.) において Cont. と大差はないが澱粉 10 % 添加のものでは著しく足が強く, Cont. と比較して全般的に澱粉含有量のいかんにかかわらず足が強い。

c), P. P. Na 添加かまぼこ群 (Pyr.) では澱粉 5 % と澱粉 15 % 添加のものが著しく足が強い。また P. P. Na は無澱粉のかまぼこに対してよりも澱粉添加かまぼこに対して足補強効果が強いようである。

d), T. P. Na 添加かまぼこ群 (Tri.) においては 5 % 澱粉かまぼこが最も足が強く澱粉 10, 15, 20 % の順に足が低下する。また T. P. Na も無澱粉かまぼこに対してよりも澱粉添加かまぼこに対して足補強効果の強いことが判る。

e), Tr. P. Na 添加かまぼこ群 (Tet.) においても 5 % 澱粉添加のものが最も足が強いが相対的に Tr. P. Na は足補強効果が弱い。

f), H. P. Na 添加かまぼこ群 (Hex.) では無澱粉の場合に比較して 5 % 澱粉添加かまぼこにおいてずば抜けて足が強くなる。このことは注目に値する。

g), KI 添加かまぼこ群 (KI) では澱粉含量による足の強弱の差は非常に少なく, Hex., Tri., Pyr. かまぼことは大分趣がことなるようである。

h), $MgCl_2$ は 5 %, 10 % 澱粉かまぼこに対しては無澱粉かまぼこに対してよりも足補強効果は大きいが澱粉 20 %, 25 % かまぼこに対しては無澱粉かまぼこに対してよりも足補強効果が弱く, 他のすべての場合すなわち, **a**), **b**), ····, **g**), とその様相がことなる。

以上のことから澱粉 5 % かまぼこは無澱粉かまぼこに比較して著しく足が強くなり, 特に P. P. Na, T. P. Na, H. P. Na は 5 % 澱粉かまぼこに対して著しい足補強効果を発揮することが判る。薬品無添加かまぼこと正燐酸塩添加かまぼこはいずれも澱粉 10 % 添加のものが最も足が強いが, Pyr., Tri., Hex., KI, Mg. かまぼこでは澱粉 5 % 添加のものが最も足が強く, P. P. Na, T. P. Na, H. P. Na は無澱粉かまぼこではあまり顕著な足補強効果がないが 5 % 澱粉かまぼこに対しては顕著な足補強効果を示し, この傾向は H. P. Na が最も著しい。このことは正燐酸塩の足補強作用と他の塩類の足補強作用とは, その機構が幾分異なるためではなかろうか。また KI は他の塩類とやや足補強効果の様子がことなる。KI は無澱粉かまぼこに対して相当足補強効果があり, KI 添加かまぼこにおいては無澱粉のかまぼこと澱粉量 10, 15, 20, 25 % のものとでは足の強さにほとんど著しい差がみられない。

またキグチ肉を材料とするかまぼこでは Tet. のみが 5 % 澱粉かまぼこの足が最も強く, 他はすべて澱粉 10 % かまぼこの足が最も強かつた。ところがクロカワを原料とするかまぼこでは薬品無添加のかまぼこと P. Na 添加のかまぼこのみが澱粉 10 % 含有のものが最も足が強く, 他のものすなわち Pyr., Tri., Tet., Hex., KI, Mg. では澱粉 5 % 添加のものが最も足が強い。これは魚肉の水分含有率その他の因子が微妙に影響するためと考えられるが加工上注目すべき点であろう。

またキグチ肉かまぼこの場合には P. Na, P. P. Na, T. P. Na は足補強効果がなくむしろ足を低下させるが, クロカワ肉かまぼこでは P. P. Na, T. P. Na を添加したものはいずれも同澱粉含量の Cont. と比較して足が強く, Pyr., Tri., Hex. はなかでも最も足が強い。これはキグチのところで述べたようにキグチ肉かまぼこの pH は 7.3 であつて, 充分に pH が高いためアルカリ性燐酸塩類はかえつて足を弱めるような結果になるが, pH の低い (6.20) クロカワ肉かまぼこでは P. Na, P. P. Na, T. P. Na のようなアルカリ性燐酸塩はかなり効果があるわけである。しかしクロカワかまぼこに対しても, P. Na, P. P. Na, T. P. Na のなかでは T. P. Na が最も足補強効果があり, P. P. Na がこれに次ぐことはアルカリ度の強弱と足補強効果の大小が逆となつている。また燐酸塩類の添加によつてかなり製品の pH が低下する。H. P. Na がキグチおよびクロカワかまぼこの両者に対して非常に足補強効果の強い事実は燐酸塩類の足補強効果は単にアルカリ

性塩添加による pH 上昇のためにかまぼこの足が強められるのではないことを示している。

要　　約

正燐酸塩 (P. Na), ピロ燐酸塩 (P. P. Na), トリ燐酸塩 (T. P. Na), テトラ燐酸塩 (Tr. P. Na), ヨードカリ (KI), および塩化マグネシウム ($MgCl_2$) の塩類がかまぼこの足にどのように作用するか，魚種のことなるキグチ肉かまぼことクロカワ肉かまぼこについて，その澱粉含量を 0, 5, 10, 15, 20, 25 % と変化せしめて 96 種類のかまぼこを作り，これら 96 種類のかまぼこの足の強弱を比較して上記薬品の足補強効果が魚種の違い，澱粉含量の違いによつてどのようにことなるかを調べた。

1) キグチ肉かまぼこは pH (7.38～7.17) が非常に高く，このものに対しては P. Na, P. P. Na, および T. P. Na は澱粉含有量のいかんにかかわらず足補強効果がなくむしろ逆に足を低下させる。特に P. P. Na は足低下作用が強い。

2) アルカリ度の低い Tr. P. Na, H. P. Na は澱粉含量 0, 15, 20 % のキグチ肉かまぼこにはやや足補強効果がある。

3) KI, $MgCl_2$ はキグチ肉かまぼこに対してかなり足補強効果があり．澱粉含量 0, 5, 10, 15, 20 % のかまぼこに対しては KI の方が $MgCl_2$ より足補強効果が強い。

4) キグチ肉かまぼこについて澱粉量の相違による足の強弱を比較すると，上記塩類添加の有無および添加塩の種類にかかわらず，澱粉 10 % 添加かまぼこの足が最も強い。

5) クロカワ肉かまぼこは pH 値が低く (6.20～5.90)，上記塩類はすべて足補強効果がある。

6) 澱粉含量 0, 5, 10, 25 % のクロカワ肉かまぼこでは T. P. Na が最も足補強効果が強く，澱粉量 15 % のものでは Tr. P. Na, 澱粉量 20 % のものでは P. P. Na が最も足補強効果が強い。

7) KI, $MgCl_2$ はクロカワかまぼこに対してかなり足補強効果があり，澱粉量 0, 5, 10 % のものでは KI と $MgCl_2$ の足補強効果はほとんど等しいが，澱粉量 5, 20, 25 % のかまぼこでは KI の補強効果の方が著しい。

8) 同一塩類添加群と塩類無添加群において澱粉含量のことなるかまぼこの足を比較すると，塩類無添加群と P. Na 添加群では澱粉量 10 % のかまぼこの足が最も強いが，他の同一塩類添加群では 5 % 澱粉含量のものが最も足が強い。

また P. P. Na, T. P. Na および H. P. Na 添加群においては，無澱粉のものと 5 % 澱粉添加のものの足の差は極めて顕著であり，特に H. P. Na 添加のもではこの差が大きい。

終りに，絶えず御鞭達と激励を給わつた京都大学教授清水亘博士を始め，大阪市立衛生研究所長岡原国男博士ならびに同研究所の久保正徳，田中薫樹両博士に厚く感謝申し上げる。またいろいろと有益な御助言を賜つた東京水産大学教授平野弘博士ならびに研究遂行に終始協力された井原典子氏に深謝致します。

文　　献

1) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄: 本誌, **24**, 647, p. 545～550, 1958.
2) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄: 本誌, **24**, 12, p. 821～825, 1959.
3) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄: 本誌, **24**, 12, p. 978～985, 1959.
4) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄: 本誌, **24**, 12, p. 986～993, 1959.
5) 岡村一弘: 本誌, **26**, 6, p. 595～599, 1960.
6) 岡村一弘: XIII 報.
7) 岡村一弘: XIV 報.
8) 岡村一弘: 本誌, **26**, 6, p. 600～604, 1960.
9) 岡田　稔・山崎惇子: 本誌, **23**, 748, p. 476～482, 1960.
10) 岡田　稔・山崎惇子: 本誌, **25**, 6, p. 435～450, 1959.
11) 岡村一弘・松田敏生・横山理雄: 本誌, **24**, 12, p. 996, 1959.

ON THE CONCENTRATION FACTORS OF SOME IMPORTANT RADIONUCLIDES IN THE MARINE FOOD ORGANISMS

Ryushi Ichikawa

(Received Sep. 26, 1960.)

Numerous marine vertebrates, invertebrates and algae are being consumed as the food materials in the Asian countries especially in Japan. These organisms can accumulate radioactive isotopes when sea water in which they live is contaminated with radioactive wastes from various nuclear energy establishments or nuclear powered vessels. Therefore, the maximum permissible concentration of the radioactive liquid waste for marine area should be determined chiefly depending on the rate of the enrichment of each radioelement by the marine food organisms from the environment, provided the influence of physical dilution process and the leaching out of the radioactive elements are omitted.

And, if the concentration factors of these elements in each organism from the water are determined, the maximum probable concentration of the radioactive isotope in organism can be estimated from the concentration in sea water.

The present report is concerned with the concentration factors of strontium, cesium, manganese, zinc, iron, cobalt and iodine in case of numerous marine organisms which are consumed universally as food materials in Japan. These elements are commonly found in the primary coolant of the nuclear reactor as the fission or the corrosion products in the cooling system and they have pretty long physical half lives.

As for this kind of investigation, there has been a few reports[1-2] which summarized numerous values as the concentration factor of the known elements in marine organisms.

However, the numbers of species of marine organisms consumed in Japan, either in animals or in plants, surpass than those in any other countries. Therefore, the values of the concentration factor concerning to the Japanese species of each food organism should be estimated in detail as much as possible.

The individual variation, influence of age, seasonal variety of physiological activity and changing of feeding habit are undoubtedly related to the rate of accumulation of the element and, turn-over of the element between the organisms and environment sometimes takes pretty long time. However, in the present report, the estimation of the concentration factor is accomplished just after the completion of turn-over of the element, i.e. the equilibrium condition.

* National Institute of Radiological Sciences. Chiba-city, Japan.
(市川竜資，放射線医学総合研究所，千葉市黒砂町 250)

1. Method

These concentration factors (on fresh weight basis) were obtained in two ways. One method is based on the analytical data of the concentration of the individual element in sea water and the marine organisms obtained by numerous investigators and the calculation is made according to the following equation.

$$\text{Concentration factor} = \frac{\text{concentration of the element in organism}}{\text{concentration of the element in sea water}}$$

The weak points of this method are low accuracy of the value in case of extremely low concentration of some elements and the probable variation of the concentration of the elements in shallow water near the sea side especially in the area supplied with the land water.

In the present investigation, the value of the concentration of each element in sea water compiled by Goldberg (1957)[1] as shown in Table 1 was employed as the standard.

Table 1. Concentration of the elements in sea water (Goldberg, 1957)

Elements	mg/l
Mn	0.002
Fe	0.01
Co	0.0005
Zn	0.01
Sr	8
I	0.05
Cs	0.0005

Another method is based on the tracer experiment by the radioisotope. When the equilibrium condition between organism and sea water is obtained, the concentration factor can be obtained according to the following equation.

$$\text{Concentration factor} = \frac{\text{radioactivity in organism}}{\text{radioactivity in sea water}}$$

The drawback in this method is the technical difficulty for attaining the equilibrium condition mentioned above in case of such element that the rate of turn-over is very slow.

And, as the special cases, concentration of strontium in muscle of various organisms was obtained by the calcium content in muscle and the strontium-calcium ratio in bone or shell assuming that this ratio could be applied also in muscle. This supposition is based on the result that the strontium-calcium discrimination observed between water and bone was found as the same as observed between water and muscle in case of rainbow trout.[2]

2. Results and discussions

Individual value of concentration factors was compiled in Table 2. Every sample is only the edible part of the organism, namely the muscle tissue with some exception which are ovary and intestine shown in parentheses in the table. And all values are based on the fresh weight for the practical convenience.

2-1. Cesium.

Cesium-137 with 33 years physical half life is one of the most hazardous fission elements found in the radioactive fallout and the liquid wastes from nuclear energy establishment. And the analytical data of the stable cesium in living organism are too few to get the concentration factor. Results of the radioactive tracer experiments give us the value about 10 for fishes and about 1 for sea weeds as the concentration factor.

2-2. Strontium

Enrichment of strontium by marine organisms is very small (lower than 1) in every food organisms except the brown algae. This phenomenon is quite lucky for the human life because strontium-90 is a hazardous element with long effective half life in man. The data concerning strontium content in edible tissue (mostly muscle) of the animals are not available and therefore, the concentration in muscle tissue was approximated by the following equation.

Sr concentration in muscle = Ca concentration in muscle × Sr:Ca ratio in bone or shell

And, for the Sr/Ca ratios in each group of animals used in this calculation are shown in each column in table 2, except the case of fishes, in which case, the analytical data of Strontium in bone[5] for individual species was used. It is very interesting that the brown algae concentrates strontium much more than the red algae does which was confirmed both by the tracer experiments and the analytical data.

2-3. Iodine

The concentration factor of iodine in most invertebrates is 2—3 times higher than that in fishes. Especially, "Konowata", the intestine of sea cucumber has the pretty high value. Sea weeds extremely highly concentrate iodine and red algae do much lower than brown one.

2-4. Iron

Fe^{55} and Fe^{59} are produced by neutron irradiation of the corrosion products in the reactor coolant system. As seen in table 2, every marine animals and plants highly concentrate iron from sea water. This phenomenon is naturally expected because this element has been well known as highly essential for the living organisms. And therefore, it can be predicted that radioactive iron in liquid wastes poured into the coastal water would be accumulated in food organisms as highly as 10^3–10^4 times.

2-5. Manganese

Mn^{54} is one of the radioactive corrosion products found in coolant water too and is concentrated into every marine organisms as highly as 10^2–10^4 times of sea water.

The cephalopods seem to have the highest value of the concentration factor and fishes seem to have the lowest one.

2–6. Cobalt

Co^{60} shows the lowest rate of enrichment among the radioactive corrosion product nuclides adopted in present investigation. Invertebrates concentrate cobalt higher than fishes, and crustaceans seem to have the highest value of concentration factor though it is due to only one species. And cephalopods appear to have 3–4 times lower value than lamellibranchs.

2–7. Zinc

Zinc–65 can be highly concentrated into marine animals and plants as much as iron–55. It is well known that this nuclide has been found commonly in tuna fishes caught around the pacific proving ground for the nuclear explosions.[16] Considering to the values of concentration factor shown in table 2, numerous invertebrates living along the coastal water should be expected to be able to highly accumulate Zn^{65} from the sea water as much as experienced in tuna fishes. And especially, molluscs would show the highest contamination by Zn^{65} in case of radioactive water pollution caused by the effluence of the nuclear energy wastes.

2–8. General features

Most of the neutron–induced radioactivity such as iron–55, 59, cobalt–60, manganese–54 and zinc–65 should be considered as quite important in aquatic food chains because of the high value of their concentration factor compared with hazardous fission elements like strontium–90 or cesium–137 which has very low concentration rate in edible part of marine organisms. Of course, these two fission nuclides undoubtedly should not be overlooked in radioactive contamination of marine products because the level of the permissible concentration of them in human diet is extremely low.

Table 2. Concentration factors (C. F.) of various elements in marine organisms (fresh weight basis).
* Reference used for the estimation of C. F. value

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
Cesium (Cs^{137})				
	Fishes			
	Flounder (post larva)	10–20	t	3
	Dorome, marine goby, *Chasmichthys gulosus*	5–10	〃	4
	Algae			
	Sea weed	1		5
	Sea weed	2	c	6
	Sea weed (Several species)	1–2	t	7

t.....Radioactive tracer experiment.
c.....Chemical analysis of stable element.
c,s ....Calculation by Ca data and Sr/Ca ratio.

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
	Aosa, green algae, *Ulva sp.*	6	〃	4
Strontium (Sr^{89}, Sr^{90})				
	Fishes			
	Guchi, croaker, *Argyrosomus argentatus*	0.1	c,s	8,9
	Maaji, horse mackerel, *Trachurus japonicus*	0.2	〃	〃
	Sukesō, alaskan pollack, *Theragra chalcogramma*	0.3	〃	〃
	Tobiuo, flying fish, *Prognichthys agoo*	0.1	〃	〃
	Maguro, bluefin tuna, *Thunnus thynnus*	0.1	〃	〃
	Echinoderms ($Sr/Ca = 0.54 \times 10^{-2}$)			
	Uni (ovary), sea urchin, *Anthocidaris crassispina*	2	c,s	10,11
	Namako, sea cucumber, *Stichopus japonicus*	0.7	〃	〃
	Crustaceans ($Sr/Ca = 1.2 \times 10^{-2}$)			
	Iseebi, spiny lobster, *Panulirus japonicus*	1	c,s	10,11
	Kurumaebi, common shrimp, *Penaeus japonicus*	0.1	〃	〃
	Shibaebi, shrimp, *Metapenaeus monoceros*	0.4	〃	〃
	Tarabagani, giant crab, *Paralithodes camtschatica*	0.9	〃	〃
	Gazami, marine crab, *Neptunus trituberculatus*	0.9	〃	〃
	Molluscs (Sr/Ca—Cephalopods $= 0.75 \times 10^{-2}$ Gastropods $= 0.3 \times 10^{-2}$)			
	Iidako, octopus, *Octopus fangsiao*	0.4	c,s	10,11
	Ika, squid, unidentified	0.1	〃	〃
	Awabi, abalone, *Haliotis gigantea*	0.1	〃	〃
	Sazae, top-shell, *Turbo cornutus*	0.2	〃	〃
	Hamaguri, clam, *Meretrix meretrix lusoria*	0.2	〃	〃
	Kaki, oyster, *Ostrea gigas*	0.2	〃	〃
	Algae (Sr/Ca of calcareous algae $= 0.6 \times 10^{-2}$)			
	Asakusa-nori, red algae, *Porphyra tenera*	0.2	c,s	10,11
	Red algae, *Rhodymenia sp.*	<1	t	13
	Brown algae, *Fucus spiralis*	8	c	12
	〃 *F. vesiculosus*	18	〃	〃
	〃 *F. serratus*	11	〃	〃
	〃 *Laminaria digitata* (frond)	18	〃	〃
	〃 〃 (stipe)	14	〃	〃
	Brown algae (4 species)	14-40	t	13
Iodine (I^{131})				
	Fishes			
	Nishin, herring, *Clupea pallasii*	15	c	9
	Madai, sea bream, *Chrysophrys major*	12	〃	〃
	Madara, codfish, *Gadus macrocephalus*	12	〃	〃
	Maiwasi, sardine, *Sardinops melanosticta*	11	〃	〃

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
	Katsuwo, skipjack, *Katsuwonus pelamis*	11	〃	〃
	Echinoderms			
	Sea cucumber, *Stichopus regalis*	66	c	14
	〃 〃	20	〃	〃
	〃 (intestine) 〃	540	〃	〃
	〃 (〃) 〃	490	〃	〃
	Sea urchin (ovary), *Strongylocentrotus droebachiensis*	60	〃	〃
	Crustaceans			
	Shibaebi, shrimp, *Metapenaeus monoceros*	20	c	9
	Kurumaebi, common shrimp, *Penaeus japonicus*	35	〃	〃
	Iseebi, spiny lobster, *Panulirus japonicus*	48	〃	〃
	Molluscs			
	Kaki, oyster, *Ostrea gigas*	71	c	9
	Hamaguri, clam, *Meretrix meretrix lusoria*	49	〃	〃
	Asari, clam, *Venerupis japonica*	41	〃	〃
	Algae			
	Konbu, brown algae, *Laminaria sp.*	3,400–6,800	c	16
	Wakame, 〃 *Undaria pinnatifida*	400–800	〃	〃
	Hijiki, 〃 *Hizikia fusiforme*	800	〃	〃
	Asakusanori, red algae, *Porphyra sp.*	160	〃	〃
Iron (Fe^{55}, Fe^{59})				
	Fishes			
	Maaji, horse mackerel, *Trachurus japonicus*	700	c	10
	Maiwashi, sardine, *Sardinops melanosticta*	2,000	〃	〃
	Karei, flat-fish, *Pleuronectes sp.*	600	〃	〃
	Saba, mackerel, *Scomber japonicus*	1,800	〃	〃
	Sanma, saury, *Cololabis saira*	3,000	〃	〃
	Suzuki, sea bass, *Lateolabrax japonicus*	3,000	〃	〃
	Madai, sea bream, *Chrysophrys major*	400	〃	〃
	Sukeso, alaskan pollack, *Theragra chalcogramma*	400	〃	〃
	Nishin, herring, *Clupea pallasii*	1,800	〃	〃
	Haze, spiny goby, *Acanthogobius flavimanus*	2,000	〃	〃
	Echinoderms			
	Uni, (ovary), sea urchin, *Anthocidaris crassispina*	10,000	c	10
	Namako, sea cucumber, *Stichopus japonicus*	78,000	〃	〃
	Konowata, intestine of sea cucumber, 〃	1,000	〃	〃
	Crustaceans			
	Iseebi, spiny lobster, *Panulirus japonicus*	1,000	〃	〃
	Kurumaebi, common shrimp, *Penaeus japonicus*	1,000	〃	〃
	Shibaebi, shrimp, *Penaeopsis sp.*	4,000	〃	〃
	Tarabagani, giant crab, *Paralithodes camtschatica*	4,000	〃	〃

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
	Gazami, marine crab, *Neptunus trituberculatus*	2,000	〃	〃
	Molluscs			
	Iidako, octopus, *Octopus fangsiano*	6,000	c	10
	Ika, squid, unidentified	400	〃	〃
	Sazae, top-shell, *Turbo cornutus*	9,000	〃	〃
	Awabi, abalone, *Haliotis gigantea*	3,000	〃	〃
	Tokobushi, abalone, *Haliotis diversicolor*	17,000	〃	〃
	Hamaguri, clam, *Meretrix meretrix lusoria*	13,000	〃	〃
	Asari, clam, *Venerupis japonica*	7,000	〃	〃
	Kaki, oyster, *Ostrea gigas*	8,000	〃	〃
	Algae			
	Asakusanori, red algae, *Porphyra tenera*	2,000	c	10
	Tengusa, red algae, *Gelidium amansii*	4,000	〃	〃
	Konbu, brown algae, *Laminaria sp.*	5,800	〃	〃
	Wakame, brown algae, *Undaria pinnatifida*	1,300	〃	〃
	Hiziki, brown algae, *Hizikia fusiforme*	2,900	〃	〃
Manganese (Mn^{54})				
	Fishes			
	Herring, *Clupea harengus*	95	c	14
	Cod, *Gadus sp*	320	〃	〃
	Mackerel, *Scomber sp.*	80	〃	〃
	Flat-fish, *Pleuronectes sp.*	70	〃	〃
	Echinoderms			
	Sea cucumber, *Stichopus regalis*	200	c	14
	Molluscs			
	Squid, *Sepia officinalis*	10,000	c	14
	Octopus, *Octopus vulgaris*	50,000	〃	〃
	Abalone, *Haliotis tuberculata*	750	〃	〃
	Scallop, *Pecten jacobaeus*	10,000	〃	〃
	Oyster, *Ostrea edulis*	1,500	〃	〃
	Clam, *Mactra corallina*	620	〃	〃
	Algae			
	Green algae, *Ulva lactuca*	1,300	c	14
	〃 *Enteromorpha sp.*	1,500	〃	〃
	Brown algae, *Laminaria saccharina*	300	〃	〃
	〃 *Fucus serratus*	7,500	〃	〃
Cobalt (Co^{57}, Co^{58}, Co^{60})				
	Fishes			
	Madara, cod, *Gadus macrocephalus*	36	c	15
	Houbou, gurnord, *Chelidonichthys kumu*	82	〃	〃
	Chidai, sea bream, *Evynnis japonica*	20	〃	〃

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
	Suzuki, sea bass, *Lateolabrax japonicus*	30	〃	〃
	Buri, yellow-tail, *Seriola quinqueradiata*	14	〃	〃
	Binnaga, albacore, *Germo germo*	28	〃	〃
	Katsuwo, skipjack, *Katsuwonus vagans*	84	〃	〃
	Saba, mackerel, *Scomber japonicus*	28	〃	〃
	Sanma, saury, *Cololabis saira*	84	〃	〃
	Iwashi, sardine, *Sardinops melanosticta*	64	〃	〃
	Nishin, herring, *Clupea pallasii*	26	〃	〃
	Echinoderms			
	Sea cucumber, *Stichopus tremulus*	240	c	14
	Crustaceans			
	Spiny lobster, *Palinurus sp.*	4,000	c	14
	Molluscs			
	Tako, *Polypus sp.*	52	c	15
	Surumeika, squid, *Ommastrephes sloani*	62	〃	〃
	Kaki, oyster, *Ostrea gigas*	170	〃	〃
	Hotategai, scallop, *Pecten yessoensis*	190	〃	〃
	Hamaguri, clam, *Meretrix meretrix lusoria*	200	〃	〃
	Algae			
	Asakusanori, red algae, *Porphyra sp.*	64	c	15
	Konbu, brown algae, *Laminaria sp.*	27	〃	〃
	Hitoegusa, green algae, *Monostroma sp.*	15	〃	〃
Zinc (Zn^{65})				
	Fishes			
	Herring, *Clupea harengus*	4,400	c	14
	Eel, *Anguilla anguilla*	4,200	〃	〃
	Mullet, *Mugil cephalus*	540	〃	〃
	Flat-fish, *Pleuronects sp.*	2,900	〃	〃
	Echinoderms			
	Sea cucumber, *Stichopus tremulus*	1,400	c	14
	Crustaceans			
	Prawn, *Palaemon vulgaris*	1,900	〃	〃
	Blue crab, *Callinectes hastatus*	4,400	〃	〃
	Shrimp, unidentified	1,700	〃	〃
	Crab, unidentified	2,100	〃	〃
	Molluscs			
	Octopus, *Octopus vulgaris*	11,000	c	14
	Squid, *Sepia officinalis*	2,600	〃	〃
	〃 *Loligo vulgaris*	5,700	〃	〃
	Abalone, *Haliotis tuberculata*	10,000	〃	〃
	Oyster, *Ostrea edulis*	40,000	〃	〃

Element	Organism	C.F.	Method	Ref.*
	Scallop, *Pecten japobaeus*	17,000	〃	〃
	Algae			
	Red algae, *Gelidium gracilaria*	80	c	14
	Brown algae, *Laminaria digitata*	400	〃	12
	〃 〃	1,000	〃	〃

References

1) Goldberg, E.D.: *Geol. Soc. America*, Memoir 67, **1**, 345 (1957).
2) Ichikawa, R.: *Rec. Oceanogr. Works in Japan* **5**, 2, 120 (1960).
3) Chipman, W.A.: Progress Report June 1956. U.S. Fish and Wildlife Service, Fishery Radiobiological Laboratory, Beaufort, North Carolina (1957).
4) Shimizu, M. and Y. Hiyama: 1st general meeting of the Japanese Society of Radiation Research. (1959).
5) Krumholz, L.A. et al.: The Effects of Atomic Radiation on Oceanography and Fisheries. 69 (1957).
6) Fukai, R. and W.W. Meinke: *Limnology and Oceanography* **4**, 398 (1959).
7) Boroughs, H. et al.: The Effects of Atomic Radiation on Oceanography and Fisheries. 80 (1957).
8) Asari, T.: Unpublished.
9) Ōshima, K.: Suisan-dōbutsu-kagaku (Chemistry of Marine Animals) (1949).
10) Kagawa, S.: Shokuhin seibun-hyo (Table of the chemical composition of food) (1959).
11) Thompson, T.G. and T.J. Chow: Papers in Marine Biology and Oceanograpy 20 (1955).
12) Black, W.A.P. and R.L. Mitchell: *J. Mar. Biol. Assoc.*, **30**, 575 (1952).
13) Spooner, G.M.: *J. Mar. Biol. Assoc.*, **28**, 587 (1949).
14) Vinogradov, A. P.: The elementary chemical composition of marine organisms. Sears Foundation for Marine Research Memoir II. Yale Univ., New Haven. (1953).
15) Tsuchiya, Y. et al.: *Tohoku J. Agr. Res.* **2**, 113 (1951).
16) Ōtani, T. et al.: Kaiso-no-kagaku (Chemistry of sea weeds) (1935).
17) Hiyama, Y.: Radiological data in Japan II. Government of Japan. (1957).

海藻の揮発成分に関する化学的研究—XVI.*

海藻による揮発成分の異同とそれらの生化学的存在意義**

片 山 輝 久

(1960 年 9 月 26 日受理)

CHEMICAL STUDIES ON VOLATILE CONSTITUENTS OF SEAWEED—XVI. THEIR PHYLOGENETIC AND BIOCHEMICAL SIGNIFICANCE

Teruhisa KATAYAMA***

In the preceding papers of this series, the author dealt with such subjects as (a) systematic separation and identification of the volatile components of various seaweeds, (b) the so-called "tang of the sea", and the principle of aromatic and odoriferous compounds of seaweeds and (c) pharmacological activity of these volatile components.

In the present report, the author discusses the biochemical significance of the volatile constituents and the difference between the volatile constituents of Chlorophyceae, Pheophyceae and Rhodophyceae, bassing on the data hitherto reported as well as those newly presented here. The results obtained are as follows:

1. Dimethylsulfide and acrylic acid are found in Chlorophyceae and some species of Rhodophyceae, but not in Pheophyceae.

2. Higher boiling parts of the fatty acid fraction and the neutral fraction, as well as and the phenolic fraction, do not differ with seaweeds, but the contents of *n*-valeraldehyde is larger in Pheophyceae than in Chlorophyceae (**Fig. 8**, **Fig. 9**).

3. The lower boiling part of the neutral fraction shows difference between Chlorophyceae, Pheophyceae and Rhodophyceae: Furfuryl alcohol is present both in Chlorophyceae and Pheophyceae but not in Rhodophyceae. The alcohol with the R_f 0.21 on the chromatostrip is present only in Rhodophyceae, and the alcohol of R_f 0.35 occurs only in Pheophyceae.

4. The biochemical significance of the compounds which are obtained as volatile constituents is discussed. It should be noted that acrylic acid, which has been detected in Chlorophyceae by gas chromatographic technique (**Fig. 6**), may be derived to β-alanine by algae in the process of assimilating ammonium, nitrite or nitrate.

5. Of the volatile constituents, dimethylsulfide, benzaldehyde, *n*-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural, furfuryl alcohol, linalool, geraniol, and 1; 8-cineol are aromatic compounds of seaweed, while methanthiol, trimethylamine, lower boiling part of fatty acids, unsaturated fatty acids, *p*-cresol are odoriferous compounds.

海藻の香気と臭気成分の本体および揮発成分の生化学的存在意義を明らかにし，また海藻による揮発成分の異同ならびに薬理作用をみる目的で揮発成分の分離確認を行なつているが，これら揮発成分が糸ミミズ殺虫力[1]，ミミズ筋肉収縮作用[2]，蛔虫に対する薬理作用[3]，抗菌作用[4),5)] のあることを明らかにしてすでに報告した。すでに述べたごとく[20]，海藻の揮発成分については HEILBRON[6] は *Fucus vesiculosus* に hentriacontane ならびに terpene の存在を明らかにし，HASS[7] は *Polysiphonia fastigiata* より dimethylsulfide を単離した。小幡ら[8] は *Ulva pertusa*, *Enteromorpha* sp. に dimethylsulfide の存在を明らかに

* 前報—XV. 本誌，**26**, 818～822 (1960).

** 本研究は昭和 35 年度文部省科学研究費（各個研究）により実施した。

*** 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

し，高岡ら[9] は *Dictyoteris devaricata* に cadinene の存在を明らかにしている。著者はアオサ *Ulva pertusa*[10,11]，アオノリ *Enteromorpha* sp.[12]，ミル *Codium fragile*[13]，ウミトラノオ *Sargassum* sp.[14]，コンブ *Laminaria* sp.[15,16]，アサクサノリ *Porphyra tenera*[17]，海人草 *Digenia simplex*[18] の揮発成分を分画して，二，三それらの異同を明らかにし，揮発成分を gas chromatography にかけたさいの異同，ならびに揮発成分の生化学的存在意義等これまでに得た知見について報告する。

Table 1. The content of crude fat and volatile constituents, and the distribution of dimethylsulfide.

Name of algae	Habitat	Season of collection	Contents of volatile constituents	Contents of crude fat	Dimethyl-sulfide
Ulva pertusa	Hiroshima Pref.	October, 1951	0.019 %	0.26 %	+
Enteromorpha sp.	Okayama Pref.	May, 1951	0.021	0.45	+
Codium fragile	Hiroshima Pref.	September, 1951	0.034	0.45	+
Monostroma sp.	〃	May, 1951	0.025	0.36	+
Laminaria sp.	Hokkaido	October, 1951	0.051	0.32	−
Hizika fusiforme	Purchased on marcket		0.053	0.31	−
Undaria Pinnatifidia	〃		0.054	0.52	−
Sargassum sp.	Hiroshima Pref.	February, 1951	0.062	0.26	−
Scytosiphon sp.	Aichi Pref.	March, 1951	0.053	0.27	−
Digenia simplx	Purchased on marcket		0.087	0.28	−
Gracilaria sp.	Hiroshima Pref.	October, 1950	0.098	0.31	−
Gelidium sp.	Mie Pref.	〃	0.13	0.22	−
Porphyra tenera	Hiroshima Pref.	March, 1952	0.053	0.26	−

実験ならびに実験結果

I. 海藻の揮発成分中 dimethylsulfide の分布

海藻の揮発成分の含量は，生育環境により[16]，海藻の品質により[15]，採収時期により[17,19] 異なるが，概して褐藻，紅藻に多く，緑藻に少ないことについてはすでに報告した[20,21] が，dimetnylsulfide の分布とともに記載すれば **Table 1** のごとくである。最近 diatom 中に dimethylsulfide の存在が明らかにされた[22]。また dimethyl-sulfide の存在が確認されている海藻は **Table 2** のごとくである。すなわち多くの緑藻と紅藻の一部に存在し褐藻には未だ見出されていない。

Table 2. Name of algae which was confirmed to contain dimethylsulfide.

Chlorophyceae	Rhodophyceae
Ulva pertusa[8]	*Polysiphonia fastigiata*[7]
Enteromorpha sp.[8]	*Polysiphonia nigrescens*[7]
Codium fragile[13]	*Pelvetia canaliculata*[23]
Monostroma sp.[19]	*Ceramium rubrum*[23]
Cladophora rupestris[23]	
Spongomorpha arcta[24]	
Halidrys siliquosa[23]	
Ulva lactuca[23]	
Enteromorpha intestinalis[23]	
Spongomarpha lanosa[24]	
Cladophora sp.[24]	

II. 海藻による揮発成分の異同

海藻を水蒸気蒸溜して溜出物は **Table 3** のごとき方法で分画した[21]。分画して得られた各 fraction より物質の単離確認法は本誌[10-18] および "Physiology and Biochemistry of Algae"[21]に記載したごとくである。

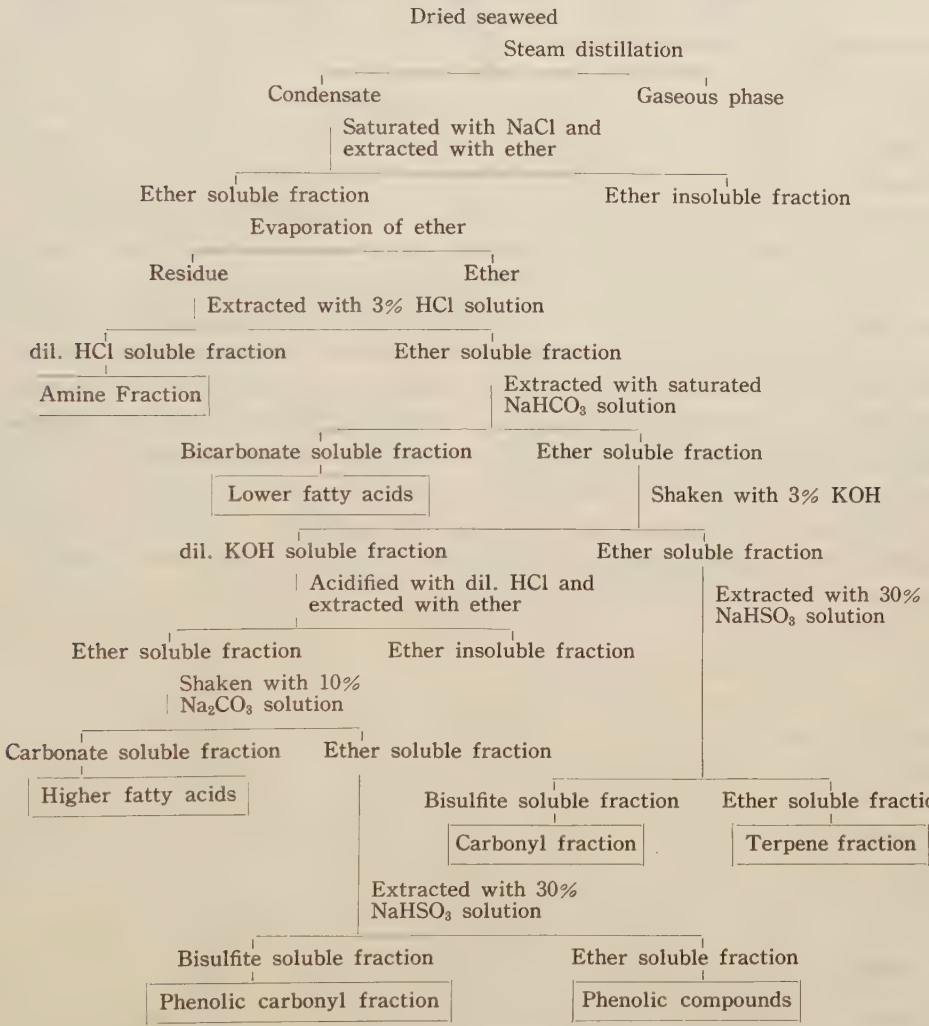


Table 3. General scheme for separation of volatile constituents.

上述の方法でアオサ *Ulva pertusa*[10,11], アオノリ *Enteromorpha* sp.[12], ミル *Codium fragile*[13], ウミトラノオ *Sargassum* sp.[14], コンブ *Laminaria* sp.[15,16], アサクサノリ *Porphyra tenera*[17], 海人草 *Digenia simplex*[18] の揮発成分を分離確認した結果をまとめると **Table 4** のごとくである。

dimethylsulfide は前述のごとく緑藻の多くと紅藻の一部に存在しているが，褐藻には未だその存在が確認されていない。acrylic acid も多くの緑藻，紅藻の一部に存在するも褐藻には含まれていない。carbonyl compounds のうち *n*-valeraldehyde は緑藻に少なく，褐藻に多量含まれている。furfuryl alcohol は緑藻，褐藻に含まれるも紅藻には存在しない。R_f 値 0.21 (chromatostrip で) の alcohol[25] は紅藻のみに存在し，R_f 値 0.35 (chromatostrip で) の alcohol[25] は褐藻のみに存在した。すなわち中性区分の低沸点部

Table 4. Difference in volatile constituents according to algae.

	Chlorophyceae			Pheophyceae				Rhodophyceae		
	Ulva pertusa	*Enteromorpha* sp.	*Codium fragile*	*Laminaria* sp.	*Sargassum* sp.	*Dictyoteris*	*Fucus vesiculosus*	*Digenia simplex*	*Porphyra tenera*	*Polysiphonia*
Dimethylsulfide	+[8]	+[8]	+	−	−	−		−	−	+[7]
Methanthiol	−	−	−	+	+			+	+	
Trimethylamine				+			+			
Formic acid	+	+	+	+	+			+	+	
Acetic acid	+	+	+	+	+			+	+	
Acrylic acid	+	+	+	−	−			−	−	
Propionic acid	+	+	+	+	+			+	+	
Butyric acid	+	+	+	+	+			+	+	
Isovaleric acid	+	+	+	+	+			+	+	
n-Caproic acid	+	+	+	+	+			+	+	
Caprylic acid	+	+	+	+	+			+	+	
Myristic acid	+	+	+	+	+	+[19]		+	+	
Palmitic acid	+	+	+	+	+	+[19]		+	+	
Linolic acid	+	+	+	+	+			+	+	
p-Cresol	+	+	+	+	+			+	+	
Furfural	+	+	+	+	+			+	+	
α-Methylfurfural	+	+	+	+	+			+	+	
n-Valeraldehyde	+	+	+	+	+			+	+	
Benzaldehyde	+	+	+	+	+			+	+	
Furfuryl alcohol	+	+	+	+	+			−	−	
R_f 0.21 alcohol	−	−	−	−	−			+	+	
R_f 0.35 alcohol	−	−	−	+	+			−	−	
1, 8-Cineol	+	+	+	+	+			+	+	
d-Limonene	+	+	+	+	+			+	+	
Linalool	+	+	+	+	+			+	+	
Geraniol	+	+	+	+	+			+	+	
Cadinene						+[9]				
Uneikosane	+	+	+	+	+			+	+	
Hentriacontane							+[6]			

には明らかに緑藻，褐藻，紅藻の異同がみられ Penfold[26] がユウカリ *Eucalyptus* を中性区分の異同により，また藤田[27]はイヌカウジウ *Orthodon* を terpene により立体的に分類していることと比較して興味深い。

III. 揮発成分のgas chromatography による分離，同定ならびに海藻による異同

1. 揮発成分中低級脂肪酸 ($NaHCO_3$ sol. fraction) の gas chromatography 低級脂肪酸は paper chromatography[28] により推定し，あるいは silica gel を吸着剤とし methanol を固定相とし，2,2,4-trimethylpentane を移動相として column chromatography[29] にかけ formic, acetic, propionic, butyric, isovaleric acids の存在を *p*-bromphenacylester として確認したが[16]，低級脂肪酸のうち不飽和のものは *p*-bromphenacylester の融点が低く再結が困難であつたので gas chromatography による分離を試みた。低級脂肪酸の gas chromatography については JAMES, MARTIN ら[30] は 10% stearic acid を含む silicone を celeit 545 (1 : 2) に吸着せしめ，column に充塡して N_2 gas を移動相とし gas chromatography にかけ acetic, propionie, isobutyric, α·α-dimethylpropionic, isovaleric acids を分離同定した報告がある。著者も silicone に 10% 純 stearic acid を混合し，celeit 545 に吸着せしめ (1 : 2) 2m の column に充塡して，純 acetic, propionic, acrylic, butyric, isovaleric acids の分離同定を試みたところ **Fig. 1** のごとく propionic acid と acrylic acid は完全に重さなり分離することはできなかつた。次に reoplex 400: celeit 545 (20 : 80) を充塡した column を用いて gas chromatography にかけると **Fig. 2** のごとく propionic acid と acrylic acid の分離は良好であるが，**Fig. 3** のごとく，acrylic acid と butyric acid が重さなり分離不能であつた。次に前述の reoplex 400 • celeit 545 混合物を充塡した column を第 1 column とし，silicone に 10% stearic acid 混合し，celeit 545 に吸着したものを充塡した column を第 2 column にとして，前記混合脂肪酸を gas chromatography にかけると，**Fig. 4** のごとく acrylic acid の分離は僅かにできた。さらに silicone に 10% stearic acid 混合: celeit 545 (1 : 2) を充塡した column を第 1 column とし，reoplex 400: celeit (20 : 80) を充塡した column を第 2 column として前記混合脂肪酸を gas chromatography にかけると **Fig. 5** のごとく完全に分離し，それらの retention time より同定することができる。そこでこの column

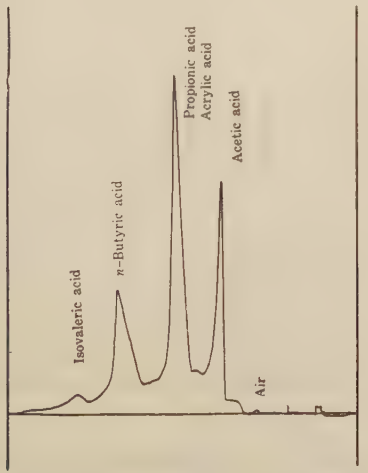


Fig. 1. The separation of acetic, propionic, acrylic, *n*-butyric, isovaleric acids. Column: 3m. silicone DC containing 10% (W/W) stearic acid was added to celeit 545 (1 : 2). Carrier: He, flow rate 40, press 0.27 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 140°C. Chart speed 10 mm/min.

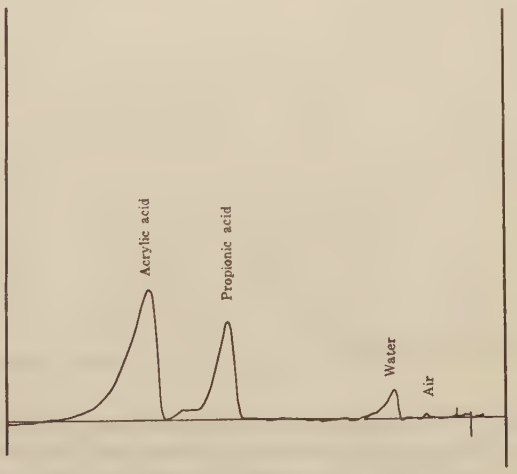


Fig. 2. The separation of propionic, acrylic acids. Column: 2m. reoplex 200: celeit (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 160°C. Chart speed, 10mm/min.

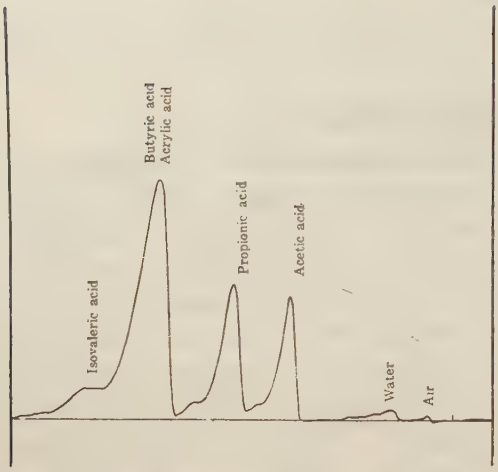


Fig. 3. The separation of acetic, propionic, acrylic, *n*-butyaic, isovaleric acids. Column: 2m. reoplex 200: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min.

を用いてアオサ *Ulva pertusa* およびコンブ *Laminaria* sp. の揮発成分中の低級脂肪酸を gas chromatography にかけると **Fig. 6, Fig. 7** のごとくでアオサ *Ulva pertusa* 中に多量の acrylic acid の存在をその retention time より確認した。これに反しコンブ *Laminaria* sp. ごとき海藻には acrylic acid は存在しなかつた (**Fig. 7**)。

2. 揮発成分中 carbomyl compounds の gas chromatography

carbonyl compounds は chromatoplat[25),31-33)] にかけ, さらに column chromatography[34),35)] にかけ benzaldehyde, *n*-valeraldehyde, *α*-methylfurfural, furfural の存在を確認したが[13),15)], reoplex 400: celeit 545 (20 : 80) を充塡した column を用いて gas chromatography にかけるとアオサ *Ulva pertusa* の carbonyl compounds は **Fig. 8** のごとく主成分は benzaldehyde, *α*-methylfurfural, furfural で微量の *n*-valeraldehyde の存在をみたが, コンブ *Laminaria* sp. では多量の *n*-valeraldehyde が含まれており (**Fig. 9**), これらのことは column chromatography の結果[18)] とよく一致した。

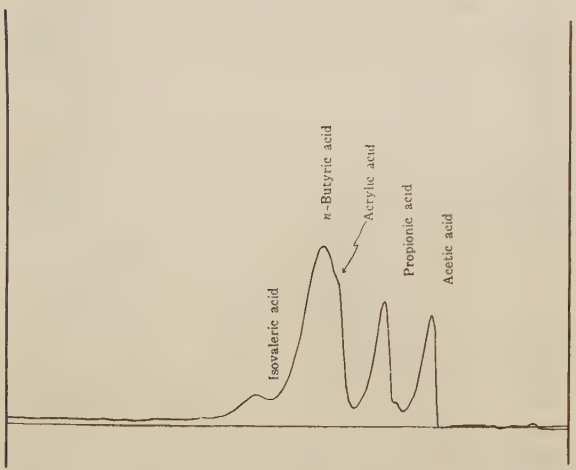


Fig. 4. The separation of acetic, propionic, acrylic, *n*-butyric, isovaleric acids. Column: 1st column, 2m. reoplex 200: celeit 545 (20 : 80), 2nd column, 2m. silicone DC containing 10% (W/W) stearic acid was added to celeit (1 : 2). Carrier: He, flow rate 40, press 0.47kg/cm². Bride curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min.

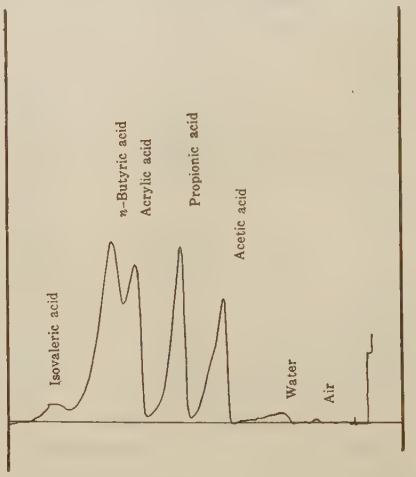


Fig. 5. The separation of acetic, propionic, acrylic, *n*-butyric, isovaleric acids. Column: 1st. column, 2m. silicone DC containing 10% (W/W) stearic acid was added to celeit 545 (1 : 2), 2nd column, 2m. reoplex 200: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 40, press 0.45kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min.

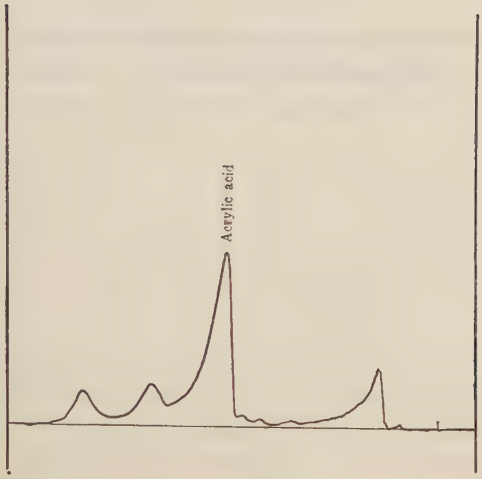


Fig. 6. The separation of the lower grade fatty acid fraction ($NaHCO_3$ sol. fraction) of volatile constituents in *Ulua pertusa*. Column: 1st column, 2m. silicone DC containing 10% (W/W) stearic acid was added to celeit 545 (1 : 2). 2nd. column, 2m. reoplex 200: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 40, press 0.45 kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min. Sample 10μl.

Fig. 7. The separation of the lower grade fatty acid fraction ($NaHCO_3$ sol. fraction) of volatile constituents in *Laminaria* sp. Column: 1st column, 2m. silicone DC containing 10% (W/W) stearic acid was added to celeit 545 (1 : 2), 2nd column, 2m. reoplex 200: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 40, press 0.45 kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min. Sample 10μl.

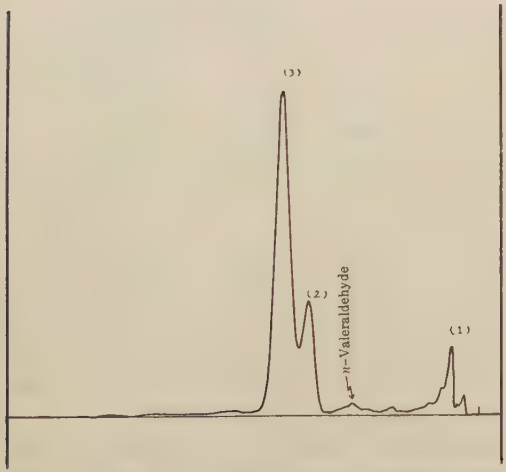


Fig. 8. The separation of the carbonyl compounds of volatile constituents in *Ulva pertusa*. Column, 2m. reoplex 400: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34 kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min. Sample 4μl.

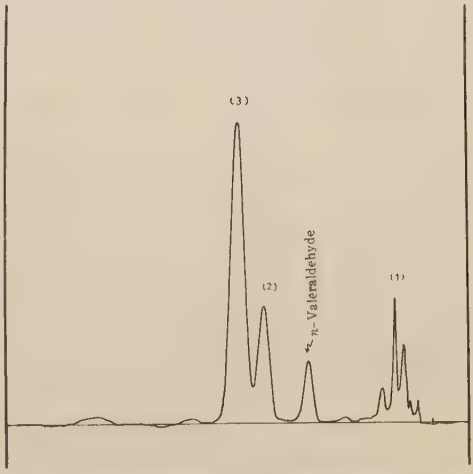


Fig. 9. The separation of the carbonyl compounds of volatile constituents in *Laminaria* sp. Column, 2m. reoplex 400: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34 kg/cm². Bridge curr. 12V, 80mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10mm/min. Sample 4μl.

3. 揮発成分中 terpene 区の gas chromatography

reoplex 400: celeit 545 (20 : 80) を充塡した column を用いて gas chromatography にかけた結果は **Fig. 10, Fig. 11** のごとくコンブ *Laminaria* sp., アオサ *Ulva pertusa* いずれも判然とした結果は得られなかつた。目下分溜中で分溜後 gas chromatography にかけた結果は次報に報告する。

Fig. 10. The separation of the neutral fraction of volatile constituents in *Ulva pertusa*. Column, 2 m. reoplex 400: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10 mm/min. Sample 6μl.

Fig. 11. The separation of the neutral fraction of volatile constituents in *Laminaria* sp. Column, 2 m. reoplex 400: celeit 545 (20 : 80). Carrier: He, flow rate 50, press 0.34 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10 mm/min. Sample 6μl.

IV. 揮発成分の生化学的存在意義

CHALLENGERら[36]は*Polysiphonia fastigiata* 中の dimethylsulfide の前駆物質は dimethylpropiothetin であることを明らかにし，ANDERSON ら[37] は *Polysiphonia lanosa* (*P. fastigiata* と同一海藻) より酵素を単離し，dimethylpropiothetin に pH 5.1 で作用せしめ dimethylsulfide と acrylic acid を生ずることを明らかにした。

$$(CH_3)_2S^+\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH \xrightarrow{GSH} (CH_3)_2S + CH_2{=}CH\cdot COOH + H^+$$

$$\downarrow \text{ammonium 塩 硝酸塩}$$

$$NH_2CH_2CH_2COOH$$

$$\beta\text{-alanine}$$

また著者も前述のごとくアオサ *Ulva pertusa*，アオノリ *Enteromorpha* sp.[38]，ミル Codium fragile[38] に多量の acrylic acid の存在を gas chromatography により確認した。これら acrylic acid は藻体内で，硝酸塩，ammonium 塩の存在のもとで β-alanine になり amino 酸の生合成に関与するものと考えられる[20),21),37),39)]。dimethylpropiothetin は酵素，熱，弱アルカリにより dimethylsulfide と acrylic acid になる。

α-methylfurfural は藻体内の hexose から，また furfural は藻体内の pentose, pentosan および uron 酸より生成されたものと考えられる[40]。

V. 海藻の香気と臭気成分

海藻の香気成分については，小幡ら[8] は dimethylsulfide であることを明らかにしたが，その他 benzaldehyde, *n*-valeraldehyde, furfural, α-methylfurfural, furfuryl alcohol, linalool geraniol, 1: 8-cineol などで臭気成分は methanthiol, trimethylamine, 低級脂肪酸，不飽和脂肪酸，*p*-cresol などであることを明らかにした。

総　　括

1. 海藻の揮発成分の異同については，dimethylsulfide, acrylic acid は緑藻と紅藻の一部に存在し褐藻には存在しない。

2. 高級脂肪酸区，中性区分の高沸点区，phenol 区には海藻による差異はみられないが，carbonyl 区の *n*-valeraldehyde は褐藻に多いが緑藻には微量含まれていた。

3. 中性区分の低沸点区の furfuryl alcohol は緑藻と褐藻に，R_f 0.21 (chromatostrip 上) の alcohol は紅藻のみに，R_f 値 0.35 (chromatostrip 上) の alcohol は褐藻のみに存在した。

4. 揮発成分として得られた物質の生化学的存在意義につき論じた。ことに acrylic acid は緑藻に極めて多量に含まれ藻体内で β-alanine に移行し，生合成に重要な役割を果しているものと考えられる。

5. 海藻の香気成分は dimethylsulfide の他，benzaldehyde, *n*-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural, furfuryl alcohol, 1:8-cineol, linalool, geraniol などで，臭気成分は methanthiol, trimethylamine, 低級脂肪酸，不飽和脂肪酸，*p*-cresol であることを明らかにした。

本研究の進展に当り，終始御懇切に御指導賜わつた九州大学農学部富山哲夫教授に感謝の意を表す。また gas chromatography は高砂香料工業株式会社研究所において実施したもので，便宜を与えられた同研究所印藤元一，湯川弘両氏に厚く感謝する。

文　　献

1) 片山輝久: 本誌, **22**, 251 (1956).
2) 片山輝久: 本誌, **22**, 253 (1956).

3) 板東丈夫・片山輝久: 日本薬理学会誌, **51**, 40 (1955); **51**, 112 (1955).
4) 片山輝久: 本誌, **22**, 248 (1956).
5) 片山輝久: 本誌, **26**, 29 (1960).
6) I. M. Heilbron, R. F. Phipers: *Biochem. J.*, **29**, 1369 (1935).
7) P. Haas: *Biochem. J.*, **29**, 1297 (1935).
8) 小幡弥太郎・五十嵐久尚・侯野景典: 本誌, **17**, 60 (1951).
9) 高岡道夫・安藤芳明: 日本化学雑誌, **72**, 999 (1951).
10) 片山輝久・富山哲夫: 本誌, **17**, 122 (1951).
11) 片山輝久: 本誌, **19**, 793 (1953); **21**, 412 (1955); **21**, 416 (1955).
12) 片山輝久: 本誌, **21**, 420 (1955).
13) T. Katayama: *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **2**, 67 (1958).
14) 片山輝久: 本誌, **21**, 425 (1955).
15) 片山輝久: 本誌, **24**, 346 (1958).
16) 片山輝久: 本誌, **24**, 925 (1959); **26**, 818 (1960).
17) 片山輝久: 本誌, **22**, 244 (1956).
18) 片山輝久: 本誌, **24**, 205 (1958).
19) 安藤芳明: 本誌, **19**, 713 (1953); **19**, 717 (1953).
20) 片山輝久: 藻類, **8**, 79 (1960).
21) T. Katayama: "*Volatile Constituents*" *a chapter in* "*Physiology and Biochemistry of Algae*" edited by *Dr. R. A. Lewin, Academic Press, New York*, (1961).
22) F. A. J. Armstrong and G. T. Boalch: *Nature*, **185**, 761 (1960).
23) F. Challenger, R. Bywood, P. Thomas and B. J. Hayward: *Archive. Biochem. Biophys.*, **69**, 514 (1957).
24) E. Nicolai and R. D. Preston: *Nature*, **171**, 753 (1953).
25) 片山輝久: 本誌, **26**, 814 (1960).
26) A. R. Penfold: *The Perfumery and Essential Oil*, **41**, 359 (1950).
27) 藤田安二: 大阪工業技術試験所報告, **306**, 1 (1955).
28) 井上吉之・野田万次郎: 日本農芸化学会誌, **24**, 29 (1951).
29) F.A. Vandenheuvel and E. R. Hayes: *Anal. Chem.*, **24**, 960 (1952).
30) A. T. James and A. J. P. Martin: *Biochem. J.* **50**, 679 (1952).
31) J. G. Kirchner, J. M. Miller and J. G. Keller: *Anal. Chem.*, **23**, 420 (1951).
32) J. M. Miller and J. G. Kirchner: *Anal. Chem.*, **23**, 428 (1951); **25**, 1107 (1953).
33) R. H. Reitsema: *Anal. Chem.*, **26**, 960 (1954).
34) J. W. White: *Anal. Chem.*, **20**, 726 (1948).
35) B. E. Gordon, H. D. Burnham and L. G. Jones: *Anal. Chem.*, **23**, 1054 (1951).
36) F. Challenger and M. I. Simpson: *J. Chem. Soc.*, 1951 (1948).
37) G. L. Cantoni and D. G. Anderson: *J. Biol. Chem.*, **222**, 171 (1956).
38) 片山輝久: 未発表.
39) 小幡弥太郎: 化学, **15**, 49 (1960).
40) E. Guenther: "*The Essential Oil*", *Vol. 1, p. 50, Van Nostrand Company, Canada*, 1952.

イカ内臓の生化学的研究—VI.

スルメイカ肝臓蛋白分解酵素の二三の性質について

高 橋 喬

(1960 年 9 月 26 日受理)

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE VISCERA OF CUTTLE-FISH, *OMMASTREPHES SLOANI PACIFICUS*—VI.

ON THE SOME PROPERTIES OF PROTEOLYTIC ENZYMES OF THE LIVER.

Takashi Takahashi*

In the previous paper[1], it was reported that the optimal pH of casein digestion by the extract of cuttle-fish liver lie in the range of 5.0～6.0 and at 2.5. Two kinds of proteinases with different pH optima at 5.0～6.0 and 2.5 respectively seem to be existed in the liver at least. Accordingly, this work was undertaken to see several characteristic properties of these proteinases.

Both the proteinase with the optimal pH at 5.0～6.0 and the proteinase with the optimal pH at 2.5 were found to be activated by such reducing agents as NaCN, cysteine, ascorbic acid, and glutathione (Table 1).

On the other hand, these actions were inhibited by metallic ions, such as Mn^{++}, Mg^{++}, Co^{++}, Cu^{++}, and Zn^{++}, and by such thiol reagents as monoiodoacetate, and *p*-chloromercuribenzoate (PCMB). (Tables 2 and 3)

However, it was observed that there are some differences in the effects of activators or inhibitors on the activities of these proteinases; in the former, its action is more powerfully activated by the reducing agents than that in the latter and is more strongly inhibited by the metal ions and the thiol reagents.

As shown in Fig. 2, it was found that the inhibitions by PCMB are readily reversed by the addition of cysteine in the both.

From the results, it may be concluded that cuttle-fish liver contains two kinds of cathepsinlike enzymes of which natures resemble each other, and each proteinase possesses sulfhydryl radical as one of the active centers.

スルメイカ肝臓 proteinase のカゼイン基質に対する至適 pH は 2.5 付近および 5.0～6.0 付近に見られることをさきに報告した[1]。pH 2.5 に至適 pH をもつ proteinase と 5.0～6.0 に至適 pH をもつ proteinase とは相異なるもののように思われるので，これら proteinase の性質を知る一手段として，activity におよぼす NaCN, cysteine, assorbic acid などの還元剤，種々の金属イオン，ならびに SH 試薬の影響を検討したが，次にその結果を報告する。

実 験

試料: 1959 年 12 月，津市魚市場より購入した新鮮なスルメイカの肝臓を用いた。

酵素液の調製: 肝臓を乳鉢でよくすりつぶし，2倍量の水を加えてよく攪拌後 0°C に一夜放置し，3000 回転，10 分間遠心分離して浮上した脂肪を除き，液層を採取する。これを沪紙で自然沪過し，得たる透明液

* 三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie.).

に硫安を加えて 0.1 飽和とし，0°C に一夜放置後沪別して沈殿を除く。沪液にさらに硫安を加え 0.7 飽和とした後，沈殿物を集め，これを水にとかし再び硫安を加え 0.7 飽和となし，得たる沈殿物を少量の水でとかしたのち 24 時間水に透析する。透析により相当量の沈殿が生ずるが，沈殿部の proteolytic activity は液部に比べてかなり低いので，透析物を遠心分離して得た上澄液を酵素液とした。実験にさいしては，これを 0.1M 食塩水で稀釈して使用した。

activity の測定法および表示法：基質として casein を用いたが，activity の測定法ならびにその表示法は前報[2] と同様であるが，activity は便宜上透析液（原酵素液）1 m*l* 当りに換算した unit activity であらわした。

実 験 結 果

試験に先立ち，上記の方法によつて得られた酵素液を 30°C で casein に作用させて activity におよぼす pH の影響を調らべた。20 分間 casein と反応させた場合も，また 20 時間反応させた場合も，結果は前報[1]（グリセリン抽出液を酵素液とした）と全く同一であつて，activity の至適 pH は 2.5 および 5.0～6.0 にあつた。

Table 1. The effects of the reducing agents on the proteolytic activity of the enzyme solution of cuttle-fish liver.

Reducing agent	Concentration of reducing agent	Proteolytic activity			
		unit activity		as % of control	
		pH 6.0	pH 2.5	pH 6.0	pH 2.5
NaCN	1×10^{-2} M	213.8	209.0	405	186
	1×10^{-3} M	141.2	169.8	267	151
	1×10^{-4} M	78.6	143.8	149	132
cysteine	1×10^{-3} M	325.6	237.6	616	211
	1×10^{-4} M	209.0	202.4	396	180
	1×10^{-5} M	124.4	171.6	235	152
ascorbic acid	1×10^{-3} M	174.2	348.4	330	310
	1×10^{-4} M	117.0	230.0	221	205
glutathione	1×10^{-3} M	204.1	195.0	386	173
control	no addition	52.8	112.6	100	100

One part of the ground liver was stirred with two parts of distilled water. The resulting suspension was kept at 0°C overnight, filtrated after removal of fat by centrifuging. To the filtrate ammonium sulfate was added, and the material which was precipitated between 0.1 and 0.7 saturation with ammonium sulfate was collected, and then dissolved in distilled water. Ammonium sulfate was added to the solution until 0.7 saturation, and the precipitate was collected by filtration, dissolved in distilled water. The resulting solution was dialyzed against distilled water for 24 hrs. at 0°C, and insoluble matter was removed by centrifuging. The supernatant solution was used for the enzyme solution after diluting with 9 volumes of 0.1M NaCl aq. solution. One m*l* of the enzyme solution and 1 m*l* of aq. solution of such reducing agents as NaCN, cysteine, ascorbic acid, glutathione were incubated for 2 hrs. at 30°C. One m*l* of the resulting mixture was added to 5 m*l* of 0.6% casein solution and incubated at 30°C for 20 mins. at pH 6.0 or 2.5, and the amounts of the protein hydrolysates were measured according to the colorimetric method with the phenol reagent of Folin.

The proteolytic activity was expressed as proteinase units per m*l* of the original enzyme solution. One proteinase unit was defined as activity which liberated per minute the hydrolyzated products of the protein which give the same Folin color as γ of tyrosine.

1. Proteinase に対する還元剤の影響

還元剤としては NaCN, cysteine, ascorbic acid, glutathione を使用した。0.1M 食塩水で 10倍に稀釈した酵素液 1m*l* にこれら還元剤の最終濃度が Table 1 に示した濃度になるように還元剤溶液を加え，水を加えて全量を 2.0m*l* とした後 30°C に2時間保ち，その 1m*l* をとり pH 2.5 および pH 6.0 において基質と反応させた。control は還元剤溶液の代りに 0.1M 食塩水を使用し主実験同様操作した。Table 1 は 30°C で 20 分間基質に作用させたときの結果である。これから知られるように NaCN, cysteine, ascorbic acid, glutathione によつて酵素作用は活性化される。その活性化の度合は還元剤の種類によつて異なるが，ascorbic acid 以外の還元剤においては，pH 6.0 で基質に作用させた場合と，pH 2.5 で作用させた場合とでは賦活前に示す activity (control の activity) と賦活後に示す activity との比が異なる。すなわち前者においてはその比は後者におけるそれよりも常に大である。しかしながら ascorbic acid を使用した場合には，pH 6.0 で基質と作用させたときでも，また pH 2.5 で基質に作用させたときでも，その比はほぼ等しく，ascorbic acid は肝臓酵素液に対して他の還元剤と異なつた影響をおよぼすように見受けられる。

上記還元剤であらかじめ活性化した酵素液を pH 6.0 でカゼインに作用させた場合，反応時間の経過とともに反応液は漸次溷濁してくるが，これは肝臓 proteinase の凝乳作用すなわち casein の部分水解が促進され不溶性の paracasein が生成されることによるものと思われる。そしてこの凝乳作用は酵素作用の活性化の大きい場合ほど強くなることを観察した。

また前報[1] において肝臓の粗酵素液（グリセリン水抽出）を pH 6.0 でカゼインに作用させた場合，反応開始後 40～60 分までの 20 分間において急激に activity が高くなることを報告したが，この点についてあらかじめ還元剤により活性化した酵素液を用いて検討したところ，Fig. 1 の結果を得た。Fig. 1 はその一例として cysteine, NaCN によりあらかじめ活性化した酵素液を使用したときの結果を示めしたものであるが，他の還元剤を使用した場合も同様な傾向を示めした。すなわち，あらかじめ活性化した酵素液を用いた場合でも，前報と同様反応開始後 40 分から 60 分までの間に activity は急激に高くなる。またこのさい還元剤を添加しなかつた control も全く同様な傾向を示めすことから，この現象は酵素作用活性剤の影響によつて生ずるものでなく，酵素自体の性質によるものであろうと推察される。

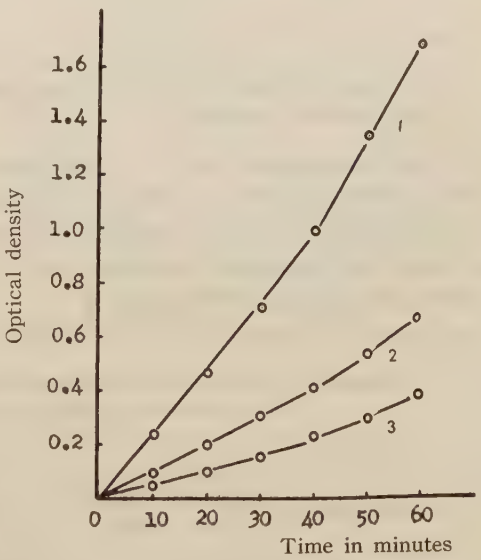


Fig. 1. Time curve of hydrolysis of casein by the enzyme solution which was preactivated with cysteine or NaCN.
1: cysteine added, 2: NaCN added,
3: control

The experimental process was the same as in Table 1, and the reaction was carried out at pH 6.0 and in the presence of 1×10^{-4}M cysteine or of 1×10^{-4}M NaCN. The extent of hydrolysis was observed by measuring the optical density according to the colorimetric method with the phenol reagent of Folin,

2. Proteinase に対する金属イオンの影響

次に proteinase に対する金属イオンの影響を検討した。金属イオンとしては Mn^{++}, Mg^{++}, Co^{++}, Cu^{++}, Zn^{++} を最終濃度が，おのおの 1×10^{-3}M, 5×10^{-4}M, 5×10^{-5}M となるように加えたが，その実験操作は前項と同様である。

Table 2 にあげたように，これら金属イオンの酵素作用におよぼす影響は，pH 6.0 でカゼインに作用させた場合と pH 2.5 でカゼインに作用させた場

Table 2. The effects of the metallic ions on the proteolytic activity of the enzyme solution of cuttle-fish liver.

Reagent of metallic ion	Concentration of metallic ion	Proteolytic activity			
		unit activity		as % of control	
		pH 6.0	pH 2.5	pH 6.0	pH 2.5
$MnCl_2$	1×10^{-3} M	40.1	101.3	76	90
	5×10^{-4} M	50.1	120.5	95	107
	5×10^{-5} M	52.8	117.1	100	104
$MgSO_4$	1×10^{-3} M	39.0	100.2	74	89
	5×10^{-4} M	50.3	106.9	96	95
	5×10^{-5} M	52.8	120.3	100	107
$CoCl_2$	1×10^{-3} M	41.2	100.2	78	89
	5×10^{-4} M	50.3	119.3	96	100
	5×10^{-5} M	52.8	119.5	100	105
$CuSO_4$	1×10^{-3} M	21.2	69.8	40	62
	5×10^{-4} M	45.4	104.7	86	93
	5×10^{-5} M	52.8	112.6	100	100
$ZnSO_4$	1×10^{-3} M	23.7	70.0	45	64
	5×10^{-4} M	46.4	102.5	88	91
	5×10^{-5} M	52.8	112.6	100	100
control	no addition	52.8	112.6	100	100

The experimental process and the expression of the proteolytic activity were the same as in Table 1.

合とではその程度に差が見られるが，いずれも抑制的に作用する。前者の場合においては，これら金属イオンはいずれもその濃度が 5×10^{-4}M ですでに抑制的に作用する。しかしながら後者の場合では 5×10^{-4}M の濃度では Cu^{++}, Zn^{++} がわずかに抑制作用を示めすが，Mn^{++}, Mg^{++}, Co^{++} の影響はなく，1×10^{-3}M で Mn^{++}, Mg^{++}, Co^{++} は抑制的な作用を示めすようになる。

3. Proteinase に対する SH 試薬の影響

SH 試薬として monoiodo acetic acid (IAc) および *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) を用いて酵素

Table 3. The effects of the monoiodoacetate and *p*-chloromercuribenzoate on the proteolytic activity of the enzyme solution of cuttle-fish liver.

Thiol reagent	Concentration of thiol reagent	Proteolytic activity			
		unit activity		as % of control	
		pH 6.0	pH 2.5	pH 6.0	pH 2.5
monoiodoacetic acid	1×10^{-2} M	6.3	13.5	12	12
	1×10^{-3} M	11.6	27.0	22	24
	1×10^{-4} M	47.5	95.7	90	85
	1×10^{-5} M	50.1	110.3	95	98
p-chloromercuribenzoate	1×10^{-4} M	0	34.9	0	31
	1×10^{-5} M	17.4	76.5	33	68
	1×10^{-6} M	32.7	103.6	62	92
control	no addition	52.8	112.6	100	100

The experimental process and the expression of the proteolytic activity were the same as in Table 1.

作用をおよぼす影響を検討した。すなわち，酵素液を 10 倍に稀釈してその 1 m*l* をとり，これに SH 試薬の最終濃度が Table 3 に示したような濃度となるように SH 試薬溶液を加え，全量を 2 m*l* としたのち，30°C に 1 時間放置後，その 1 m*l* を酵素試験に供した。Table 3 は pH 6.0 および 2.5 において 30°C で 20 分間カゼインに作用させたときの結果である。これら試薬はいずれも酵素に対し抑制的に作用する。IAc を使用した場合には pH 6.0 でカゼインに作用させたときもまた pH 2.5 で作用させたときでも，酵素作用はほど同程度に抑制されるが，PCMB を使用した場合，前者においては後者におけるよりも強く抑制される。

次に PCMB による阻害の可逆性について，cysteine を用いて検討した。10 倍に稀釈した酵素液 0.5 m*l* に，最終濃度が 1×10^{-4}M となるような PCMB 溶液を 0.25 m*l* 加え 30°C に 10 分間放置し，次にこれに最終濃度が 1.5×10^{-4}M になるような cysteine 溶液 0.25 m*l* を加え 30°C に 10 分間保つたのち，これら混合溶液に基質溶液 5 m*l* を加えて pH 6.0 または 2.5 で 30°C，1 時間反応させた。なお PCMB のみを 1×10^{-4}M 添加したもの，ならびに control として PCMB および cysteine を添加しないものも同時に試験したが，これらの結果は Fig. 2 に示めすようである。Fig. 2 から明らかなように，pH 6.0 でカゼインに作用させた場合もまた pH 2.5 で作用させた場合も，cysteine の添加によつて PCMB による阻害作用はほとんど除去されることを知つた。

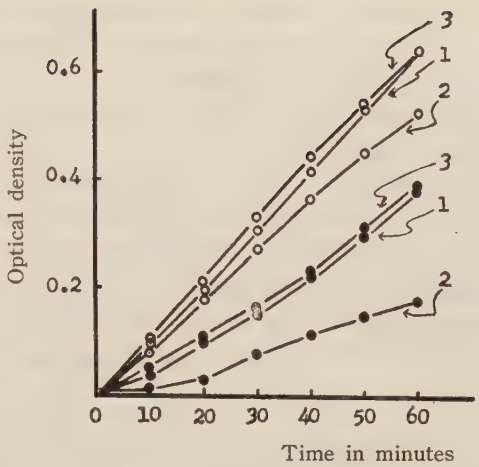


Fig. 2. The effects of *p*-chloromercuribenzoate (PCMB) on the proteolytic activity of the enzyme solution in the presence of cysteine.
●— incubated at pH 6.0.
○— incubated at pH 2.5.
1: PCMB 1×10^{-4}M and cyteine 1.5×10^{-4}M, 2: PCMB 1×10^{-4}M, 3: control.

The preparation of the enzyme solution was same as in Table 1, 0.5 m*l* of the enzyme solution and 0.25 m*l* of 2.4×10^{-3}M PCMB aq. solution were kept at 30°C for 10 mini., and to this mixture was added 0.25 m*l* of 3.6×10^{-3}M cysteine aq. solution, and hold at 30°C for 10 mins. To the resulting mixture, 5 m*l* of 0.6% casein solution was added and incubated at 30°C for 20 mins. at pH 6.0 or pH 2.5. The observation of the extent of hydrolysis was the same as in Fig. 1.

考　　察

スルメイカ肝臓抽出液のカゼインに対する proteolytic activity の至適 pH は 5.0～6.0 および 2.5 付近に見られたが，上に述べた試験の結果より，5.0～6.0 に至適 pH をもつ酵素と至適 pH 2.5 を有する酵素とはきわめて類似した性質を持つ酵素であろうと推定される。

一般に protease は酵素蛋白自体の性質，特にその活性化，抑制の様式によつて，次の 3 群に大別されている[3]。第 1 群：酵素作用を発揮するため特定の試剤を必要としないもの。第 2 群：シアン化水素酸塩，cysteine, ascorbic acid, glutathione のような還元剤によつて活性化されるもの。第 3 群：特定の金属イオンにより活性化されるもの。

しかしてスルメイカ肝臓のこれら proteinase はいずれも，その酵素作用は NaCN, cysteine, ascorbic acid, glutathione により活性化され，Mn^{++}, Mg^{++}, CO^{++}, Cu^{++}, Zn^{++} によりまた SH 試薬である IAc, PCMB により阻害される。したがつて肝臓のこれら proteinase は第 2 群に分類されている cathepsin 系酵素に属するものと考えられる。

本実験において酵素作用の活性化または抑制を検討するために使用した種々試薬のうち，ascorbic acid

はこれら酵素のいずれに対してもほぼ同程度の活性効果を示めし，また IAc は同程度に抑制的に作用するが，その他のものはいずれも pH 5.0～6.0 に至適 pH を有する酵素に対しては，pH 2.5 に至適 pH をもつ酵素に対するよりも強い影響をおよぼしている。したがつて酵素蛋白自体の性質として前者は後者よりも還元剤により活性化され易く，またその反面金属イオンならびに SH 試薬により阻害され易い性質をもつているように考えられる。

また本実験において SH 試薬として IAc および PCMB を用いたが，一般に IAc は alkylating agent として SH 基の閉塞に使用され，PCMB は mercaptide-forming agent として用いられており，PCMB は SH 基に対し特異的に作用するといわれている[4]。IAc, PCMB の影響についてはすでに述べたように，これら酵素に対しいずれも抑制的に作用するが，これら酵素の PCMB による阻害はいずれも可逆的であつて，cysteine の添加により，ほぼ完全に除去される。したがつて肝臓中のこれら proteinase はいずれもその反応基の一つとして SH 基を持つものと推定される。

要　　約

スルメイカ肝臓抽出液のカゼイン基質に対する activity の至適 pH は 5.0～6.0 と 2.5 とに見られるが，酵素作用に対する還元剤，金属イオンならびに SH 試薬の影響を検討し，次の結果を得た。

1. 5.0～6.0 に至適 pH を示めす proteinase と 2.5 に至適 pH を示めす proteinase とは，いずれも cathepsin 系酵素に属し，互いにきわめて類似した性質をもつように考えられる。

2. PCMB による阻害が可逆的であることから，これら proteinase はいずれも活性基の一部として SH 基をもつものと推定される。

本研究を行なうに当り，御懇切な御指導を賜つた本学立野新光教授に深謝するとともに，種々御助言を戴いた北御門学講師に厚く謝意を表する。なお本研究は文部省科学研究費によつた。併せて謝意を表する。

文　　献

1) 高橋　喬：本誌，**26**, 504 (1960).
2) ――――：本誌，**26**, 500 (1960).
3) E. L. SMITH: "Proteolytic Enzymes" [SUMNER, J.B., MYRBACK, K., eds., "The Enzymes" Vol. 1, Part 2. Academic Press, (1951)] pp. 794.
4) E. S. GUZMAN, BARRON: "Thiol Groups of Biological Importance" [F. F. NORD, ed., "Advances in Enzymology" Vol. XI, Interscience Publishers, Inc., (1951)] pp. 201.

抄　　録

太平洋のハリバットのストック INTERNATIONAL PACIFIC HALIBUT COMMISSION: *Report of the International Pacific Halibut Commission* (1960).

1953年，アメリカ，カナダ両国間において，ハリバットの保護に関する会議が開かれ，特にハリバットの漁獲の許容最大値とその維持について論議された。漁獲の許容最大値を知るためには，ハリバットの全死亡率，すなわち自然死亡率と漁獲率を求める必要があり，ここでは標識放流試験と年令組成による見積りとから，これらの値が推定された。(I) 標識放流による見積り：　全死亡率 a は次式で計算される。

$$a=1-\sqrt{\frac{R_3}{C_3}+\frac{R_4}{C_4}+\cdots+\frac{R_t}{C_t}\;\frac{R_1}{C_1}+\frac{R_2}{C_2}+\cdots+\frac{R_t}{C_t}}$$

R は各年毎の利用採再数，C は漁獲量，試験はA区域 (Spencer 岬の南) とB区域 (同岬の西) で行なわれた。(II) 年令組成による見積り：　連続する2年級間 $(j, j+1)$ における年間死亡率 (i) は次式で計算される。

$$i=\frac{\sum_{x=1}^{r}\left[I_{n_x}N_j-I_{n_x}N_{j+1}\right]}{r}$$

I_n は自然対数，N は 10,000 skate 当りの漁獲尾数，r は $j, j+1$ の平均年数，x は1から r まで。

数年間にわたる平均全死亡率 (I) はこれらの年間死亡率の平均値で求められる。或いは次式で求められる。

$$I=\frac{\sum_{x=1}^{r}\left[\frac{I_{n_x}N_i-I_{n_x}N_{j+t}}{t}\right]}{r}$$

この2方法による結果は次の通りである。

漁場	A			B		
方法	自然死亡率	漁獲率	全死亡率	自然死亡率	漁獲率	全死亡率
標識放流	0.43	0.30	0.73	0.07	0.46	0.53
年令組成	0.26	0.20	0.46	0.30	0.20	0.50

検討の結果，年令組成による見積りの方が適正であるように思われた。(井上)

ヤツメウナギ (*Lampetra fluviatilis* L.) の血液の性状の季節変化　M. M. IVANOVA-BERG and M. M. SOKOLOVA: *Voprosy Ikhtiologii*, No. 13, 156～162 (1959) (USSR).　秋期海から河川に遡上し，冬の間河川内で摂餌せずに越冬し，春になると川で産卵して死ぬ本種の秋と春の血液の性状を比較した。材料はネヴァ川で採取された。諸測定は秋のものについて11～60例，春のものについて6～14例行なわれた(測定項目によつて異る)。測定の結果を秋と春で比べると，赤血球数は 1,657,000 : 1,014,000，ヘモグロビンのザーリ指数は 13.0 : 8.8g%，蛋白質は 5.46 : 1.91% と，いずれも春の方が秋に比べて低い値を示した。この結果は，冬季の長期間の絶食と，性腺の急激な発育に伴なう消耗によるものらしい。一方，白血球数は 56,000 : 65,000，ヘモグロビン量と赤血球数との比は 0.96 : 1.16 と春に反つて増加する。後者の比の値の変化は春に赤血球の容積が減ることと関連するらしい。最後に循環する血液の総量は体重に対すて秋が 4.3%，春が 4.5% で差を示さなかつた。(児玉)

魚卵の自動計数機　B.B. PARRISH, I.G. BAXTER and M. J. D. MOWAT: *Nature*, **185** (4715), 777 (1960).　現在，魚類の孕卵数は，単位容積または重量中の卵数を実測によつて求め，これに全卵巣容積または重量を乗じて求めている。しかし，この方法では，多数の魚について孕卵数を調べることは，ほとんど実行不可能であつて，資源学的研究に支障をきたしている。このため，卵数を自動的に測定する装置を考案した。この装置の原理は次のようである。ばらばらに分離した卵巣卵を，水流とともに細管の中を1列にして流す。この途中に算定部があり常に光線 (電源 2.2V, 0.25A, flush-light bulb) が光電子倍増管 (RCA 型 931A) の陰極に当つている。流れてきた卵が，この光線を断続する。この断続回数を倍増管に接続している電気計数機 (Panax 型 D 554) が記録する。

卵の通る細管の直径は，ニシン卵に対しては，1.53 mm が最適であり，測定速度は毎秒 100 粒位が良い。本装置を用いて，500～800粒，2万～4万粒のニシン卵を各4回測定した結果が記載されているが実測との誤差は1% 以下で，精度が高い。なお，装置の略図も示されている。(野村稔)

British Columbia における中層トロールの発達　W. E. BARRACLOUGH and W. W. JOHNSON: *Bulletin No. 123. Fish. Res. Bd. Canada*, 1～45 (1960).　ニシンは日中あるいは冬期には海底近くに密集するので，これを漁獲するのに中層トロールが必要である。1950年来，British Columbia において中層トロールが試みられ，1955年には一応成功の域に達した。この間の中層トロールの発達を網，浮子，オッターボードの三点から論ずる。(I) 網：　実験に使つた網は Net. No. 1, No. 3-A·B, No. 4, No. 5, No. 6, トンネル式網，ズボン式網，高速度式網，スズキ用網の 10 種類でいずれもナイロン製である。Net. No. 1 の構造は Bulletin, No. 104 に掲載されている。No. 3-A·B は 65 フイトの網で両者は型網のとり方に相違がある。No. 4 は片ウインチ，片ダビットの試験用網で 45～50 フイトである。No. 5 は No. 3-B と同様の設計で網目に違

いがある。No. 6 は小型ニシン用である。“トンネル式”，“ズボン式”は網にかかる抵抗を少なくし，網口を拡くするよう設計され，“高速度式”は“ズボン式”と速度の比較のため作られた。スズキ用網は網口が高く，普通のトロールにくらべ漁獲上大差がある。(II) 浮子: 網の抵抗や headrope の重量を増さずに網口を拡げるために，翼を有する浮子の試験が行なわれた。(1) ひさしを有する丸浮子を流線型の翼にとりつけ，その下に三角形の脚をつけ，Sweepline 上を自由に移動できるようにしたもので最初は浮子，翼が木製で脚が鉄製であつたが，次に浮子と翼が 5/16 インチのアルミニウムで作られた。(2) 重量と価格の軽減のため，1 枚のアルミニウム板を流線型に曲げ，直径 8 インチのアルミニウム丸浮子をつけたもの。(III) オッターボード: アルミニウムとマグネシウムの合金板で，2～6 ノットの曳網スピードで安定が保てるように設計されている。その特徴は，ボードは 36×35 インチの大きさで 140° に V 形に角度を持ち垂直の安定は air ballest tube と垂直安定板によつて水平の安定は上下二対の水平安定板によつて得られる。また，ボードの下端には 4 インチ幅のスキーがつけられている。(註: 網浮子，オッター，ボードの詳細な図面が記載されている) (井上)

種々動物の脳下垂体生長ホルモンの比較血清学的研究 T. HAYASHIDA and C. H. Li: *Endocrinology*, **65**, 944～956 (1959). これまでに種々の脳下垂体生長ホルモン (STH) が精製せられ，その理化学性 (分子量・等電点・アミノ酸組成等) に種属差の存在することが見られている。人の STH は猿のそれに類似するが牛とは大きく異り，また羊の STH は牛に類似する。ここに高度精製の牛および人 STH に対する抗血清が得られたので血清学的にこの問題を検討している (抗原としての構造上の異同)。

抗血清調製は人 STH の場合，兎に対し 2 mg 宛皮下注と腹腔注を行ない 2 週間後これを繰返し，さらに 5 週間後 2 mg を同様処理し全量 10 mg 投与後 10 日目に心臓穿刺し採血凍結貯蔵。用時吸着処理を行なう。また供試ホルモンは Li 自身のものと Wilhelmi が調製せる 2 種の標品を供試しているが同一結果を示している。

A. Precipitin ring test (通常の重層法による ring 生成の有無を見る)。牛・羊 STH は相互に血清学的に類似するが，人・猿 STH とはかなり相異する。また人・猿 STH は相互に非常に類似するが鯨牛は互いに全く異なる。

B. Precipitin test in agar (Ouchterlony 法による agar geldiffusion technique) では，牛 STH による抗血清に対し牛・羊 STH が酷似，人 STH による抗血清に対しては人・猿 STH が良く似た結果を示した。

C. Anaphylactic shock test. 40 匹のモルモットを人 STH で感作したものを供試してるが，人 STH は鋭敏に反応し，0.1 mg STH で感作した場合 0.025～0.200 mg で，猿 STH も 0.050～0.200 mg でそれぞれ shock 死を示す。ところが鯨・牛 STH では倍量の 1.00 mg 投与でも 1 例も反応なし。

D. Antihormone test. 32 匹の鼠を用い，脳下垂体除去 2 週間後に毎日 10 μg のホルモンを投与 5 日目に供試し Tibia test でホルモン活性を測定。先に牛 STH による抗体が牛 STH の活性を中和，また人 STH による抗体も同様の挙動をなすことが観察されているが，本実験でも牛 STH による抗体は牛 STH のホルモン活性を中和するが，人 STH には無影響で，上述の実験結果と一致する結果を示した。

なおこれらの結果が artifact によるものかも知れぬ——すなわち，精製ホルモンの specific な抗原性は精製の際に用いられた種々の理化学的処理に基ずくものではないかとも考えられるので，前葉の粗製抽出液についても anaphylactic shock test と antihormone test を行ない，精製 STH による抗体が良くこれらの粗製 STH と反応することを明らかにして，精製 STH と実際に前葉中に存在するホルモンの抗原的同一性を強く支持する結果を示している。

また，人・猿・豚・鯨 (座頭)・牛・羊の全 STH が一様に鼠の生長を促進する (魚 STH に対してのみ感受性なし) 事，また人は人・猿 STH に感受性を示すが，牛 STH には影響されぬことよりして，これらホルモンの間には構造上かなりの相違があるにかかわらず共通の active core が存在し，鼠にはこれを利用するに必要な酵素系を有しているが人は有していないのだろうと述べている。(石原)

Pacific Sardine (*Sardinops caerulea*) の餌 C. H. HAND and L. BERNER, Jr.: *Fish. Bull.* **60** (164), 175～184 (1959). 1949～52 年，中部 Baja California と原部 California の沿岸で主に叉手網とダイナマイトで夜間採集された Pacific Sardine 585 個体 34 標本 (体長 110～235 m の成魚 571 個体，31～85 m の未成魚 14 個体) の胃内容物を調査した。胃内容物種類について同一標本 (群) 内の個体間の差はほとんどなく，成魚と異なり未成魚では植物プランクトンが極く少量しか認められなかつた他調査された体長範囲内では体長による差はなかつた。重量組成では甲殻類が全胃内容物の 89% を占めその中でも小型 Copepoda (74%) が最も多かつた。また同一場所，時刻で採集されたプランクトン (ネット口径 0.5 m，網目 0.6 mm) との関係は順位相関係数 (Kendall の τ) を求めて検討したがほとんど同じ組成であることが認められた。特に各層採集の結果から表層のプランクトン採集物との相関が高かつた。このことから Pacific Sardine が広食性であるといえるが一部の標本ではオキアミ類または稚仔魚のみを飽食した場合も認められ，種々の飼育

実験からの知見からも本種の選択的摂餌行動をも否定する事は出来ない。産卵状態にある Sardine の胃は大部分空胃または空胃に近いものでも本種の卵のみが見い出されたが産卵状態にないものは通常の量の餌を摂つていることから産卵中は摂餌を中止するものと思われる。胃内容物の昼夜の相違は標本がほとんど夜間に得られたため顕著な差は認めることができなかつた。(鈴木)

北西太西洋における Haddock の Stock J. R. CLARK and V. D. VLADYKOV: *Fish. Bull.* **60** (169) 283～296 (1960). 太西洋北西部 16 漁場から得られた Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) 108 群, 9,985 個体の平均脊椎骨数を解析し population の識別を試みた。魚場間には高い有意差 (F =182) がみられ, 地理的変異として Geoges Bank から北東に Emerald Bank まで漸次高く, さらに Gulf of St. Lawrence まで比較的一定で北高南低の傾向が認められたが, その北の St. Pirre Bank (Newfoundland) で急激に低くなつた。一般に魚類の脊椎骨数は発生初期の環境特に水温によつて決定されると考えられており, Haddock の卵は底または底近くで産卵された後表層に浮上するので平均骨数と産卵時表面水温との相関をみると明らかに負の関係が認められ Pirre Bank の場合は産卵時水温が高いことによつて説明された。一方比較的高温で骨数の低い太西洋北東部 (North Sea, Ireland, Iceland, Faroes, Norway) の資料 (Tåning 1935) を用いて水温との関係をプロットすると北西側の St. Pirre Bank と重なり, その平均骨数範囲は広がりかつ同一カーブにのることが認められた。年による変動をみるため Geoges (1942～49 年) と Browns Bank (1943～48 年) の標本について鱗による年令査定から年級を分け Passamaquoddy Bay の Eastport, Maine の水温からその産卵時水温を推定, 解析したが, その関係は漁場別のカーブとほぼ一致した。それら平均骨数から北西太西洋の Haddock population を Newfoundland, 東部 Nova Scotian, 中部 Nova Scotian, 西部 Nova Scotian, および New England の 5 つの "stock" (Marr 1957) に分けた。(鈴木)

M.S. 222 によるマスノスケ稚魚の麻酔 R. EISLER and B. TADEUSZ: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **89** (2), (1960). 近年, 魚類の麻酔には, ウレタンに代つて, M.S. 222 (Tricaine Methansulfonate) が使用されてきている。1 つがいの親から出た平均体長 8.9cm, 体重 7.6g のマスノスケ稚魚について, 適正な M.S. 222 溶液濃度, 作用時間などを調べた。その結果, マスノスケ稚魚は, 作用時間 5 分間では, 濃度 1 : 33,000 以上で麻酔され, 1 : 10,000 以上では死魚がでた。さらに, 1 : 33,000 の溶液に種々の時間作用させた結果, 稚魚を 241 分以上溶液に入れておくと魚は死んでしまつた。

なお, 本報告には, 従来各研究者によつて行なわれた各種魚類に対する M.S. 222 濃度などが要約されている。それによると, キンギョ 1 : 1,000～1 : 20,000, ブラックバス 1 : 3,333, ギンザケ 1 : 12,500, ニジマス 1 : 7,570, カワマス 1 : 5,000～1 : 20,000 となつており, 各魚種により, また同一魚種においても, 溶液濃度に大きな相違が見られる。(野村)

細菌芽胞の発芽率を測定する二つの加熱法とフェノール処理法の比較 A. L. FERNELIUS: *J. Bact.*, **79** (5), 755～756 (1960). 発芽率を測定する種々の方法のうち, 加熱法は最も用いられている。この方法は一般に芽胞懸濁液を 60°～65°C の湯浴に浸漬して加熱されているが, このさい懸濁液が目的とする温度に達するまでに時間がかかり, この間に発芽率が増加するので不満足である。そこであらかじめ 60°～65°C に保持した蒸留水 9 cc に 1 cc の芽胞懸濁液を加える方法と, 芽胞懸濁液 9cc に 10% フェノール 1 cc を加える方法を考案した。この三つの方法を *B. anthracis* の芽胞を用いて比較したところ, 従来の加熱法は他の 2 方法より常に発芽率が高く出る傾向があり, ことに 99 % 以下の発芽率の場合に甚しい。例えば 15°C 2 分間培養で従来法が発芽率 76 % の場合, 稀釈加熱法とフェノール処理法はでは 10 % ではるかに発芽率は低く, また新しい 2 方法の結果はよく一致する。(横関)

マレイン酸価によるビタミン A の生物学的効力の測定法 S.R. AMES and R.W. LEHMAN: *J.A.O.A.C.*, **43**, 21～25 (1960). ビタミンAは 2-3, 6-7 の二重結合で異性体を作り, 全トランス型, 2-シス型 (ネオ), 6-シス型および 2, 6-シス型の 4 個の異性体の存在が可能である。このうち 6-シス型と 2, 6-シス型は全トランス型と比べて特に生物学的効果が低いが, 従来から用いられている比色分析あるいは分光分析によるビタミンAの定量法ではこれらの差異はまつたく認められなかつた。

本報告はビタミン油中のビタミンAの生物学的効果を化学的に測定する方法を述べたものである。この定量法は 2-3 と 4-5 の二重結合がトランス型であるAのみがマレイン酸と反応することに基いている。すなわちビタミンAとマレイン酸とを 25°C で 16 時間反応させた後反応しないで残つているAをカール・プライス法で測定してマレイン酸価とした。生物学的効果は著者の提唱した三次式を用いてマレイン酸価から算出する。(豊水)

酸化油中のカルボニル—I. 揮発性モノカルボニルの分離 A. M. GADDIS, R. ELLIS and G. T. CURRIE: *Food Research*, **24**, 283～297 (1959).

豚脂を蒸気蒸溜しカルボニルを 2, 4-ジニトロフェニールヒドラゾンとして分離した。これを 20% 加水したアルミナおよび硫酸ソーダとアルミナとの混合物とを充塡剤としたカラムクロマト法によつてモノカルボニルとヂカルボニルとに分別した。モノカルボニルは 5% エーテルを添加した石油エーテ

ルを展開剤とした濾紙クロマト法によつて 2-alkanone, alkanal, alk-2-enal, alk-2, 4-dienal の4群に組分けした。各群について C_1～C_6 はプロピレングライコールで，C_7～C_{12} はワセリンで前処理した濾紙を用い，メタノールを展開剤としてクロマト法で同定した。他方，各スポットからの抽出液を分光分析法で定量した。分析結果から常温酸化した試料中のカルボニルは飽和カルボニルが主成分であり加熱酸化したものでは不飽和カルボニル特に 2, 4-dienal が主成分であることが明らかとなつた。分離・同定されたカルボニルはアセトン，メチルエチルケトン，alkanal としては $C_{1,2,3,6,7,8,9}$，5種類の 2-enal および3種類の 2, 4-dienal であつた。またジカルボニルは α-ジカルボニルが大部分であつた。(豊水)

酸化油中のカルボニル—II. 冷凍豚肉中の揮発性カルボニルの分離・定量 A. M. GADDIS and R. ELLIS: *Food Research*, **24**, 392～400 (1959).

15°F (−9.5°C) に15カ月間貯蔵した豚肉を試料とし，調理における加熱と同程度すなわち 165°C で 15 分間加熱したものおよび加熱しないものから油を抽出して，前報とまつたく同一のミクロ分析法で揮発性カルボニルの分離と定量とを行なつた。その結果 165°C での加熱処理はモノカルボニルの種類のみでなく生成量に対しても影響を与えることが明らかとなつた。加熱しない油からは alkanal として $C_{1,2,3,6,9}$ および3種の未知のカルボニル，2-enal としては $C_{7,8,9,10,11}$ および 2, 4-dienal としては $C_{7,9,10,11}$ の存在が認められた。他方，加熱した油には alkanal として $C_{6,8,9}$，2-enal として $C_{7\sim11}$ および 2, 4-dienal としては $C_{7,10,11}$ が認められた。(豊水)

酸化中のカルボニル—III. 揮発性および不揮発性カルボニルの分布 A. M. GADDIS, R. ELLIS and G.T. CURRIE: *Food Research*, **25**, 495～506 (1960). 紫外線照射して酸化した豚油を 165°C, 15 分間加熱処理したものおよび加熱処理しないものについてカルボニルを Girard T 試薬で分離・定量した。その結果，酸化油中のカルボニルは大部分非揮発性のもので，これはいわゆる結合型のカルボニルである。油の酸化によつて生成するカルボニルは酸化によつて直接生成されるのではなく，ある前駆物質から分解されて生成するものと考えられる。(豊水)

種々なる肉溶液中における CTC の熱破壊 T.R. PARKS, H. M. EL-BISI and W. B. ESSELEN: *Applied Microbiol.*, **8** (5), 305～311 (1960). 牛肉，豚肉，羊肉，鶏肉，タラ，エビ，カニなどから調製した肉溶液中に CTC を加え，種々の温度に加熱してその破壊程度を調べた。加熱時間に対して残存 CTC 濃度の対数をプロットして，熱不活性率曲線を求めると，大部分が直線にはならず，時間とともに不活性率が減少する傾向が見られた。このような現象は特に低温加熱の場合顕著であつて，肉溶液中に抗菌性物質に対して保護作用を示す物質の存在を示唆している。また 100 ppm の CTC が 7 ppm まで破壊するために必要な時間を加熱破壊時間としてこれを種々の温度に対してプロットした曲線はほとんど直線になつた。例えば加熱破壊時間は 100°C で燐酸緩衝液 (pH 4.5) 44 分，牛肉 13 分，豚肉 10 分，羊肉 8 分，鶏肉 9 分，タラ 6 分，エビ 5 分，カニ 18 分である。(横関)

ニシンミール製造中のアミノ酸の変化 G. BOGE: *J. Sci. Food Agr.*, **11**, 362 (1960). ニシンミール製造における各工程の試料の 18 種のアミノ酸含量を微生物法で定量し，製造中の変化を調べた。分析した試料は次の通りである。(I) Whole herring (Clupea harengus) (500 *hl* からとつた平均試料), (II) Press-cake (50 *hl* のニシンからえた平均試料), (III) Press-cake meal (II を入口約 400°, 出口約 80° の dryer で乾燥したもの), (IV) Whole meal (初め約 120°, 終りに約 105° で水分約 60% まで濃縮した V と III をもとの割合に混合したもの), (V) Press water, (VI) Solubles (V を 156°, 143°, 133° の3段階で濃縮，水分約 70% にしたもの), (VII) Meal (自然発熱した黄褐色の不良品)。なおこれらの試料は予備処理として脱脂および低温減圧乾燥を行なつている。

この結果 II と III および I と IV と比較してみるとこのような製造条件では分解は起らないようである。VII は IV に比し，リジン，トリプトファン，シスチン，ヒスチヂンがそれぞれ，30, 27, 27, 20% 少く，他のアミノ酸の大部分も約 10% 位少ない。

製造中の乾燥の温度と時間は考慮を要する点で，V と VI の比較から濃縮中ある種のアミノ酸の分解が可成り起ることが明らかである。すなわちシスチンはほぼ完全に分解され，ヒスチヂン，トリプトファンはそれぞれ 43, 36% 損失した。リジンについては自然発熱によつて 30% 分解しているのに対し press-water の濃縮中に 5% しか分解しないことは興味がある。他のアミノ酸は製造中まつたく安定のようである。(金光)

2, 4-DNPH から硫酸によるカルボニル化合物の再生 R. BASSETTE and E. A. DAY: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **37** (10), 482～483 (1960).

方法: 2, 4-Dinitrophenylhydrazone (DNPH) 0.1～10 mg を乾いた 50 *ml* 三角フラスコにとり，conc. H_2SO_4 3 *ml* にとかす。とけにくい時は H_2SO_4 をさらに使用し，加熱してはならない。フラスコを静かに回転しながら蒸溜水 10 *ml* を加えるとカルボニル化合物がすぐ再生される。これを分離するときは水蒸気蒸溜にかける。**利点**: この方法は簡単かつ迅速で，再生されたカルボニルの臭を官能検査によつて観察できる。**回収率**: 多数の alkanals, alkan-2-ones, *n*-2-alkanals を用いて測定した回収率は 23～61% の範囲でかなり低かつたが，これはカルボニルを分離する際の水蒸気蒸溜による損失が大きいためと思われる。(外山)

雑　　録

○理　事　会

日　時　12 月 20 日　午後 2 時
場　所　東京水産大学大会議室
出席者　会長以下 15 名
議　題

1. 昭和 36 年度年会の実行計画について小野準備委員長より報告があつた。
   海洋学会と共催のシンポジウムについて，松江，熊凝両氏を連絡委員とすることとした。
2. 農学運営委員会新崎委員より次の報告があつた。
   a. 流動研究員および流動研究員候補者推薦委員に森高次郎氏が決まつた。
   b. 農学大会は例年 4 月 5 日に開催することになつた。したがつて各学会の年会はなるべくこの日と重ならないようにしたい。
   c. 学術会議として例年のように国際会議についての案内はしないこととなつた。国際会議に出席希望者は個人で直接交渉しないで，すべて学会を通して学術会議に推薦してほしい。
   d. 新崎委員が来年(36年) 1 カ年留学するので，その間の後任を決められたい。
3. 前記 2 項中，b. については年会委員にてなるべく趣旨に添うように計画する。c. について各評議員宛に国際会議出席希望者の調査を依頼し，本部でリストを作製し，それについて 1 月の役員会で審議し学術会議に推薦することにした。d. については会の性質上東大関係者で相談していただくこととした。
4. 学術国語審議会委員であつた東秀雄氏の任期満了により後任を日比谷京氏（東大）に決めた。
5. 支部長変更
   九州支部長富山哲夫氏に代り今田清三氏となつた。
6. 入会承認　　個人　7 名　　団体 1.

○編集会議

日　時　12 月 20 日　午後 4 時
場　所　東京水産大学大会議室
議　事

1. 編集理事幹事の員数等に関する規約改正は 1 月より着手する。
2. 投稿原稿の状態を明らかにしておく。
3. 英文飜訳担当者を次回までに決める。
4. 綜説執筆者を依頼する。

○日本水産学会中部支部例会

日　時　昭和 36 年 1 月 14 日（土）
場　所　愛知県水産会館（名古屋市　伊勢町）

I．研究発表

魚類の生産量と排泄物	川本　信之（三重県大水）
真珠漁場における餌料生産に関する一考察	上野　福三（　〃　）
陛下御採集標本中の等脚目一新種に就いて	椎野　季雄（　〃　）
アサクサノリの Type-specimen に就いて	瀬木　紀男（　〃　）

輪虫の海水培養と保存に就いて　伊藤　隆（三重県大水）
養鰻池における Microcystis の分布，特にその増殖に対する塩分，水温，
栄養塩類の影響　岩井　寿夫（　〃　）
浅草海苔の増産に就いて　立野　新光（　〃　）
ボラ川養殖場の塩分量の季節的変化　°中村　中六（東大水実）
立木　秀雄（愛知水試）
茅野　博美（愛知水試尾張分場）
日本産鯉科魚類の咽喉骨と咽喉歯の研究　°小林久雄・前田　孟（愛知学大）
福井県日向地先におけるバフンウニの標識放流結果
°南沢　篤・上野山　清・滝　襄（福井水試）

II．シンポジウム
浅海増殖に就いて

○ フルブライト資金給付者募集

在日合衆国教育委員会（フルブライト委員会）は 1961～1962 年度フルブライト往復旅費のみの給付に関する選考を次の要領で発表したので会員にお知せします。

1. 応募資格

1. 日本国籍を有すること（二重国籍者は認めない）。
2. 米国大学の招聘または在籍許可を得ており，少くとも一学年期以上留学を希望するものであること（招聘教授の場合は一年以下でも応募資格がある）。
3. 米国における充分な弗資金による滞在費を確保していること（原則として渡米経験のない者に優先権がある）。

2. 応募種別

1. 教授，研究員
大学教授，助教授および研究調査に従事する学識経験者で博士号或は同等以上の学識経験を有するもの
登録締切日　2 月 28 日
2. 大学院
米国大学院に入学を許可され滞米中の学費および全生活費，諸雑費（月約 170 ドル）確保できるもの
登録締切日　3 月 31 日

3. 応募手続き宛先

東京都千代田区九段 2 丁目 2 番地　在日合衆国教育委員会内　教授，研究員係又は大学院学生係
（注意）　希望者は，上記事務局該当係に文書により説明書または応募用紙を請求すること。なお，米国大学と交渉中の方も参考資料として往復書簡の写しを同封した上，一応登録締切日までに申込むこと。

正　誤　表

Vol. 26, No. 12, p. 1231

(誤)	(正)
海底泥土中の硫酸塩還元細菌の計算について	海底泥土中の硫酸塩還元細菌の計数について